



University of Groningen

**Vrouwen, een minderheid? Literatuuronderzoek naar genderverschillen in neurofysiologisch onderzoek en verslag van een mainstreaming project van het biologie -onderwijs aan de Rijksuniversiteit Groningen.**

Pol-Meijer Margriet M. Th. van der, [No Value]; Butter, Maureen E.

**IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.**

*Document Version*

Publisher's PDF, also known as Version of record

*Publication date:*  
2003

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

*Citation for published version (APA):*

Pol-Meijer Margriet M. Th. van der, N. V., & Butter, M. E. (2003). Vrouwen, een minderheid? Literatuuronderzoek naar genderverschillen in neurofysiologisch onderzoek en verslag van een mainstreaming project van het biologie -onderwijs aan de Rijksuniversiteit Groningen.

**Copyright**

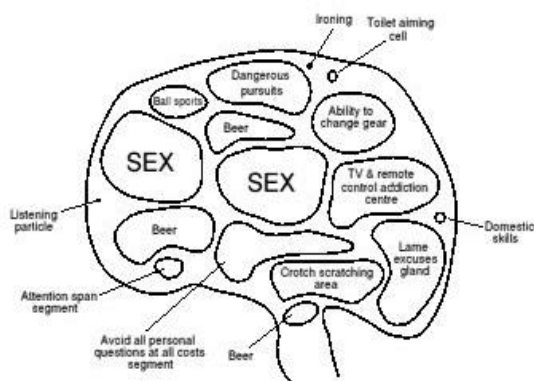
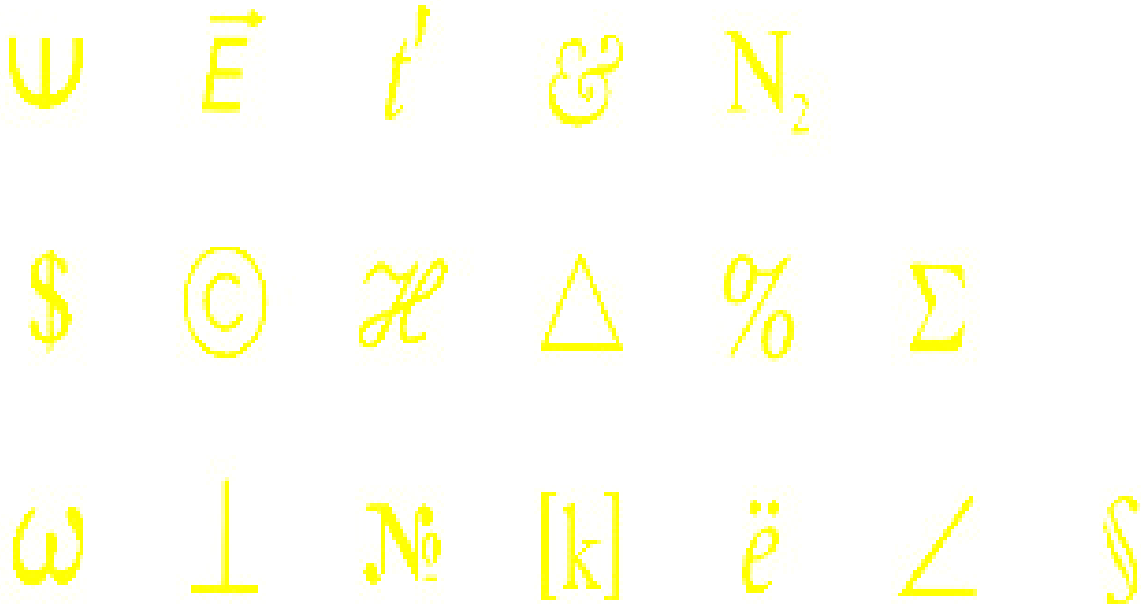
Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

**Take-down policy**

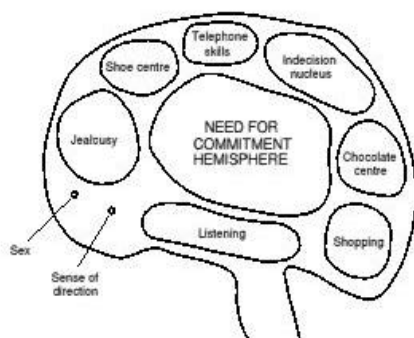
If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

RuG



THE MALE BRAIN



THE FEMALE BRAIN

# Vrouwen, een minderheid?

**Literatuuronderzoek naar gender in neurofysiologisch onderzoek en verslag van een mainstreaming project van het biologie-onderwijs aan de RUG**

**Margriet M. Th. van der Pol-Meijer**

**Maureen E. Butter**



# Vrouwen, een minderheid?

Literatuuronderzoek naar gender in neurofysiologisch onderzoek en verslag van een mainstreaming project van het biologie-onderwijs aan de Rijksuniversiteit Groningen

Margriet M. Th. van der Pol-Meijer

Maureen E. Butter



# Colofon

## **Vrouwen, een minderheid?**

Literatuuronderzoek naar genderverschillen in neurofysiologisch onderzoek en verslag van een mainstreaming project van het biologie-onderwijs aan de Rijksuniversiteit Groningen

**Margriet M. Th. van der Pol-Meijer, Maureen E. Butter**

## **Rapport 58**

ISBN 90-367-1823-6

Haren, januari 2003

Rijksuniversiteit Groningen

Wetenschapswinkel Biologie

Kerklaan 30

Postbus 14 9750AA Haren

Tel 050-3632385

Fax 050-3635205

<http://www.rug.nl/wewi/deWetenschapswinkels/biologie/>

# Dankwoord

Dit project is tot stand gekomen dankzij een subsidie van EEVA (Extra Emancipatie/ Vrouwenstudies Activiteiten) van de Rijksuniversiteiten. Bijzondere dank gaat uit naar Dr Bauke Buwalda, voor de dagelijkse begeleiding van het literatuuronderzoek en naar de overige leden van de begeleidingscommissie: Dr. Menno Gerkema, Dr. Anton Scheurink, Dr. Henny van der Windt. Andere, niet hier met name genoemde personen, die een rol hebben gespeeld bij het tot stand komen van het deelrapport van Margriet van der Pol, worden op pagina 52 apart door haar bedankt.

# Inhoud

Colofon .....	3
Dankwoord .....	4
Inhoud .....	5
Abstract.....	7
Samenvatting .....	8
Projectverslag.....	9
Maureen E. Butter .....	9
1.    Waarom dit rapport? .....	11
1.1    Inleiding .....	11
1.2.    Achtergrond van het project.....	11
Biologische verschillen en verschillen in omgevingsfactoren en levensstijl.....	12
Kennistekort in fundamenteel onderzoek .....	13
Referenties .....	15
Gender in medisch/ fysiologisch biologisch onderzoek Sekse bias in humane en dierexperimentele publicaties .....	17
Margriet M. Th. van der Pol-Meijer .....	17
1    Inleiding.....	19
2.    Gendersverschillen en het biologisch/medisch onderzoek.....	21
2.1    GENDER: historische/maatschappelijke aspecten .....	21
Gendersverschillen en de omgeving .....	21
2.2    Kwantitatief publicatie onderzoek op PUBMED .....	24
3    Genderidentiteit: ontwikkeling .....	27
4    Gender en gedrag .....	31
4.1    Inleiding .....	31
4.2    Invloed van geslachtshormonen op complex gedrag.....	32
Tegenstrijdige resultaten.....	32
Challenge test .....	32
Ontwikkeling in de jeugd bepaalt volwassen respons .....	33
Voortplantingsgedrag best bestudeerd.....	33
Niet-genetische invloeden van steroïde hormonen.....	33



<b>5</b>	<b>Genderverschillen in gevoeligheid.....</b>	<b>35</b>
<b>5.1</b>	<b>Toxicologische aspecten.....</b>	<b>35</b>
	Cytochroom P-450 .....	35
<b>5.2</b>	<b>Farmacologische aspecten .....</b>	<b>36</b>
	Leeftijdsafhankelijk sekseverschil in medicijnmetabolisme bij de rat .....	36
	Complicerende factoren.....	36
	Humaan onderzoek.....	37
	Verdoezeling sekseverschil bij pijnpatiënten .....	37
	Farmacogenetica.....	37
	Gender en medicijnen: maatschappelijke ontwikkelingen .....	38
	De buis.....	40
	Het proefdier.....	40
	De mens.....	40
<b>5.3</b>	<b>Milieuaspecten.....</b>	<b>41</b>
<b>6</b>	<b>Proefdierkeuze, economische en ethische aspecten.....</b>	<b>43</b>
<b>6.1</b>	<b>Regels voor ethisch gebruik van proefdieren.....</b>	<b>43</b>
<b>6.2</b>	<b>Geslachtskeuze proefdieren.....</b>	<b>43</b>
	Cyclus.....	43
	Werkgemak .....	43
	Economische motieven.....	44
	Fysiologische respons.....	44
	Mannelijke en vrouwelijke modellen, wetenschappelijke continuïteit .....	44
	Farmeaceutische industrie .....	45
<b>6.3</b>	<b>De proefdierfokkerij .....</b>	<b>45</b>
	Biologisch overschot .....	45
<b>7</b>	<b>Tot slot.....</b>	<b>47</b>
<b>7.1</b>	<b>Discussie .....</b>	<b>47</b>
	Methodologische problemen .....	47
	Individuele variatie en genderverschillen .....	48
	Maatschappelijke taboes.....	48
	Fundamenteel onderzoek noodzakelijk .....	49
	Genderonderzoek is belangrijk.....	49
<b>7.2</b>	<b>Stellingen.....</b>	<b>50</b>
<b>7.3</b>	<b>Doctoraalonderwerpen .....</b>	<b>50</b>
	Ontwikkelen van een vrouwelijk diermodel.....	50
	Genderverschillen en de rol van social support .....	51
	Statistische analyse van de hormonale cyclus in verband met de hoeveelheid te gebruiken proefdieren.....	51
	<b>Met dank aan.....</b>	<b>52</b>
	<b>Referenties .....</b>	<b>53</b>

# Abstract

Report of a gender mainstreaming project in the curriculum of the School of Biology, University of Groningen. On account of questions posed by WECF (Women in Europe for a Common Future) into gender aspects of environment and health, we found gender differences in physiology to a large extent unexplored in basic research. This finding entailed a desire to stimulate interest in such matters in students. Gender gaps in basic physiology research at the Department of Biology were identified, as well as impediments to take gender into account in students' projects.

Most experiments in projects for physiology students make use of male rats as animal models. A search in the scientific database confirms that this is the general trend in basic research. Some diseases, such as depression, or anorexia nervosa, display huge gender disparity, but we cannot begin to explain why, as long as these diseases are not extensively studied in both sexes. In human medical and pharmaceutical research, some interest in gender differences has become apparent of late. Still, the majority of publications either don't mention sex, or male only. Basic research on animal models lags even farther behind: over the last decade, the predominance of male rats has been increasing, rather than decreasing. It is quite possible, if not probable, that women respond differently to environmental pollution or pharmaceuticals than men. But due to lack of scientific interest, the issue is impossible to decide.

In order to achieve greater gender balance, a number of challenges need to be met, most of which are rather inspired by practical than ideological considerations. Comparability with previous research, the oestrus as a source of extra variation and hence the need for more experimental animals, as well as ethical considerations are frequently mentioned. But because male rats are more in demand, there is a 'biological surplus' of female laboratory rats, which are killed and used for *in vitro* (biochemical) experiments, or as animal fodder. For mice, there is a biological surplus of males, so here the gender gap is reversed. The majority of animal models, however, consists of rats.

As the male rat is more 'manageable' than the female, many experimental settings are unfit for females. So, experiments with females require new investments, as well as meticulous calibration of basic physiological parameters. These differ in both genders. In fact, sex differences can be found from the molecular level up to the organisation of the central nervous system. For all practical purposes, a female might even be regarded as a different species. But, if that is the case, there is all the more reason, to investigate responses of both sexes. There seems to be a tendency, to generalise results obtained by one sex only, to the whole population, ignoring gender.

The first part of this report summarizes the results of the project; the second part reviews gender disparities in basic and applied physiology research, as well as gender differences in neurophysiology. In the final chapter, some suggestions for projects are given. Main conclusions from this part are, that gender differences deserves more attention in basic animal research, as well as in clinical research. Scientific as well as social interests ethically justify the use of more experimental animals. Physiology of behaviour is in an excellent position to explore physiological as well as social influences on gendered behaviour. Gender specific responses to environmental pollution are even less researched than differences in response to pharmaceuticals. Specifically the activating (short term) role of hormones to membrane bound receptors needs more attention.

# Samenvatting

Dit rapport doet verslag van een gender mainstreaming project in het medisch biologisch onderwijs aan het Opleidingsinstituut Biologie van de Rijksuniversiteit Groningen. Aanleiding tot dit project vragen van WECF (Women in Europe for a Common Future) over genderverschillen met betrekking tot gezondheid en milieu. Daar bleek naar verhouding weinig over bekend, zowel wat betreft biologische verschillen in gevoeligheid als wat betreft verschillen in blootstelling. Alleen reproductietoxicologie is voor vrouwen en vrouwelijke proefdieren behoorlijk goed onderzocht, maar daar ontbreekt weer veel kennis over mannen.

In fundamenteel fysiologisch onderzoek is de mannelijke rat veruit het populairste proefdier. Meer fundamenteel onderzoek aan vrouwelijke proefdieren zou belangrijk kunnen zijn om op langere termijn het kennistekort over verschillen in gevoeligheid in te lopen. Het onderwijs leek een geschikt startpunt om belangstelling te wekken. Hiertoe werd geïnventariseerd in hoeverre er sprake was van een scheve gender balans, en wat ervoor nodig zou zijn om genderverschillen meer tot hun recht te laten komen in het onderwijs.

Onderzoek aan de database voor medisch fysiologisch onderzoek laat zien, dat er op het terrein van humaan en klinisch farmaceutisch onderzoek zich de laatste jaren een kentering aftekent: er is meer interesse voor genderverschillen. In het fundamentele (proefdier)onderzoek daarentegen is de trend omgekeerd, de laatste tien jaar is de verhouding alleen maar schever geworden. Sommige ziekten, bijvoorbeeld anorexia nervosa en depressie, komen veel meer bij vrouwen voor dan bij mannen, maar worden toch hoofdzakelijk bestudeerd aan mannelijke proefdieren. Het is zeer wel mogelijk, dat milieuvervuiling verschillend uitpakt voor de verschillende seksen, maar bij gebrek aan gegevens kan daar weinig over gezegd worden. Wel is duidelijk, dat sekseverschillen zich niet beperken tot voortplantingsfuncties. Zij doen zich over de hele linie voor, vanaf het moleculaire niveau tot en met algemene fysiologische regulatie en organisatie van het centraal zenuwstelsel.

De redenen voor de geconstateerde voorkeur voor mannelijke proefdieren, ook in het onderwijs, zijn vooral van praktische aard. Het meest genoemd werd de vrouwelijke cyclus als bron voor extra variatie. Daardoor zijn meer proefdieren nodig, en meer experimenten. Dat kan ook ethische consequenties hebben, immers men mag niet onnodig veel proefdieren gebruiken. Maar wegens de grotere vraag naar mannelijke dieren is er een 'biologisch overschot' aan vrouwtjes. Deze worden uiteindelijk ook doodgemaakt, en dan dikwijls alsnog gebruikt voor experimenten met dood materiaal, of als diervoer.

De mannelijke rat is hanteerbaarder dan het vrouwtje. Daarom zijn veel proefopstellingen niet zonder meer geschikt voor het gebruik van vrouwelijke dieren. Er zijn dus nieuwe investeringen nodig, plus een hoop werk in het vaststellen van fysiologische parameters, omdat deze immers bij mannetjes en vrouwtjes verschillen. Praktisch gesproken is het vrouwtje een andere diersoort, met alle moeilijkheden vandien. Dat zou op zichzelf overigens een argument zijn, om de sekseverschillen juist wel te onderzoeken.

Het eerste deel van dit rapport vat de resultaten van het project samen. Het tweede deel gaat uitvoerig in op gender onevenwichtigheden in fundamenteel en toegepast onderzoek, en op genderverschillen in neurofysiologie. In het slothoofdstuk worden enige suggesties gedaan voor studentenprojecten. De belangrijkste conclusies van dit deel zijn, dat onderzoek naar genderverschillen meer aandacht waard is, zowel in fundamenteel als in klinisch onderzoek. Zowel de wetenschappelijke als de maatschappelijke belangen rechtvaardigen het gebruik van extra proefdieren. Gedragsfysiologie leent zich bij uitstek om de grenzen te verkennen tussen fysiologische en maatschappelijke invloeden op het gedrag. Genderverschillen in gevoeligheid voor milieubederf zijn nog slechter onderzocht dan verschillen in gevoeligheid voor medicijnen. In het bijzonder de activerende (korte termijn) werking van hormonen op membraangebonden receptoren verdient aandacht.

**deel I**

## **Projectverslag**

Maureen E. Butter



# 1. Waarom dit rapport?

## 1.1 Inleiding

Dit rapport is voortgekomen uit een project, gericht op het onderwijs aan de Afdeling Biologie van de Rijksuniversiteit Groningen. Aanleiding tot dit project was de door de Wetenschapswinkel geconstateerde toegenomen maatschappelijke vraag naar deskundigheid op het gebied van gender vraagstukken, niet alleen op sociaal en economisch terrein, maar ook bij milieu en volksgezondheid. Onderzoek en onderwijs spelen nog niet op deze behoefte in.

Het rapport, waarin het literatuuronderzoek en projectverslag zijn opgenomen, was in eerste instantie bedoeld als intern stuk voor medewerkers en studenten aan de Afdeling Biologie van de Rijksuniversiteit Groningen. Het project had ten doel aandacht voor gender in het biologie onderwijs een nieuwe impuls te geven. Het verslag heeft inmiddels zijn weg naar de doelgroep gevonden en het project is afgesloten. Het hier bijeengebrachte materiaal kan als basis dienen voor vervolgprojecten in onderwijs en onderzoek, een handig opstapje voor wie met deze zaken aan de slag wil gaan.

Een reden om dit materiaal ook als extern rapport uit te brengen, ligt in de bruikbaarheid ervan voor een breder publiek dan onderzoekers en studenten aan de RUG. Studenten en onderzoekers aan andere afdelingen en instellingen kunnen er hun voordeel mee doen. Een tweede reden ligt in het feit, dat dit project niet zoveel enthousiasme voor het onderwerp heeft opgeleverd als ik had gehoopt. Dat komt, omdat zowel onderzoek als onderwijs vooral gestuurd worden door geldstromen. Geldstromen, op hun beurt worden weer gestuurd door politieke prioriteiten en door de markt. Dit rapport geeft enig inzicht in het maatschappelijk belang van gender op terreinen als milieu en volksgezondheid.

Ook blijkt, dat er sprake is van een 'kennissat' binnen het medisch biologisch onderzoek. In het medische en farmacologische onderzoek tekent zich reeds een toenemende aandacht voor genderverschillen af en een doorbrekend besef dat de menselijke populatie breder is dan de 'standaard proefpersoon', die blank is, mannelijk, omstreeks 30 jaar en in goede gezondheid verkeert. Milieuwetenschappen en, helaas ook, biologie volgen deze trend nog niet. Publicatie van dit rapport kan mogelijk een steentje bijdragen om dit kennissat te dichten.

## 1.2. Achtergrond van het project

Sinds de VN Vrouwenconferentie in Beijing, 1995 geldt voor alle lidstaten van de VN de verplichting tot 'gender mainstreaming' op alle beleidsterreinen. Dat wil zeggen, dat beleidsmakers rekening houden met de diversiteit in de bevolking. De verplichting is niet wettelijk bindend, evenmin als Agenda 21 dat is, maar wordt binnen de EU breed onderschreven, ook in Nederland (11, 16).

Het begrip 'gender' duidt het geheel van biologische en sociaal-culturele verschillen aan, die gerelateerd zijn aan sekse. Een bredere opvatting van dit begrip omvat ook verschillen naar leeftijd, ras, klasse en ethniciteit (16).

Gender mainstreaming verschilt van het vroegere emancipatiebeleid, in die zin dat het geen specifiek op vrouwen gericht achterstandsbeleid is, maar dat beleidsmakers vanaf het begin in gedachten moeten hebben, dat de bevolking niet homogeen is, en dat effecten van het beleid op subgroepen behoren te worden ingecalculeerd. Nota's waarin sekseverschillen en andere onderscheiden groepen binnen de populatie niet genoemd worden, spelen per definitie niet in op verschillen in maatschappelijke rolverdeling en zijn dus niet 'gemainstreamed' (11, 16).

## Biologische verschillen en verschillen in omgevingsfactoren en levensstijl

Van biologen mag men verwachten, dat zij zich bekommeren om kennisontwikkeling over biologische sekseverschillen. Kennis over sociale mechanismen van genderdifferentiatie is voor aankomende biologen eveneens van belang, gezien de controversen en begripsverwarring, die bij maatschappelijke en wetenschappelijke discussies over gender relaties nog altijd een rol speelt. Maar lichamelijke verschillen als zodanig zijn zonder meer van belang voor tal van beleidsvraagstukken.

### Reproductieve gezondheid en pseudohormonen

Veel voorkomende milieuverontreinigingen blijken endocriene processen te kunnen verstoren. Onder meer zware metalen als lood, kwik, cadmium, arseen, mangaan, gechloreerde koolwaterstoffen als DDT, lindaan, PCB's en dioxinen, plus nog een groot aantal bestrijdingsmiddelen en industrieel toegepaste organische stoffen, waaronder synthetische geurstoffen en weekmakers. Effecten in het veld zijn tot nog toe het best gedocumenteerd bij dierpopulaties. In geïndustrialiseerde landen met een geavanceerde milieuwetgeving worden mensen in hoge mate afgeschermd van hoge doses van deze stoffen. Maar ook lage doses blijken gevaarlijk. Veel vetoplosbare stoffen passeren ongehinderd de placenta. Een zich ontwikkelende foetus blijkt uiterst gevoelig voor blootstelling aan lage doses van dit soort stoffen. Zij kunnen de ontwikkeling van het ongeboren kind ongunstig beïnvloeden, hetgeen onder meer tot uiting komt in leer- en gedragsmoeilijkheden en een toename in laterale lijn afwijkingen, zoals hazelip, open rug, en hypospadieën. Onderzoekers vermoeden, dat veel effecten pas jaren later zichtbaar worden.

Relevante biologische sekseverschillen zijn verschillen in vetgehalte, verschillen in gevoeligheid tussen mannelijke en vrouwelijke foetussen. Verschillen in expositie kunnen optreden door verschillen in woon- en werkomgeving en het grotere gebruik van cosmetica en geurstoffen door vrouwen (2.3. 6. 9. 12. 13).

Twee terreinen, waar deze verschillen bij uitstek een rol spelen, zijn milieu en volksgezondheid. Met betrekking tot gezondheid (ook in relatie met milieu) zijn ook verschillen in omgevingsfactoren en levensstijl van belang. Ten aanzien van de genderdimensie van milieu, in het bijzonder gezondheid en milieu, krijgt de Biologiewinkel regelmatig vragen uit de vrouwenbeweging.

VROM is pas in een laat stadium van de voorbereidingen van het NMP4 begonnen met gender mainstreaming (5), ook VWS heeft inmiddels een eerste stap gezet, (17). VROM heeft in september 2000 experts op het gebied van gender uitgenodigd om van gedachten te wisselen over gender in het milieu- en in het ruimtelijke orderingsbeleid (5). VWS heeft in 2000 een expert meeting georganiseerd over gender in de medische beroepsgroep (17).

### Medicijnonderzoek pakt maar een deel van de populatie

De laatste tijd wordt steeds meer gepubliceerd over de discrepantie tussen de populatie, waarop medicijnen getest worden, en die waarop ze vooral gebruikt worden (7, 15, 18). Op zichzelf is deze aandacht een teken, dat het tij begint te keren. De voortgang in het humaan genoom project en de ontwikkeling van steeds betere moleculaire testtechnieken openen perspectief voor preciezere, op het individu toegesneden medicatie-ontwikkeling (zie deel II van dit rapport, het literatuuronderzoek van Margriet van der Pol).

Het valt echter moeilijk in te zien, hoe dit bereikt kan worden zonder meer onderzoek aan niet-genetische verschillen, zoals sekse, leeftijd, levensstijl en ziektegeschiedenis.

De EU heeft, aan de vooravond van de presentatie van het zesde Europese Actieprogramma Milieu, in februari 2001, vertegenwoordigers van de vrouwenbeweging uitgenodigd, om te discussiëren over de gender dimensie in het milieubeleid.

De Europese contacten zijn voortgezet, en worden gecoördineerd door de in Nederland zetelende organisatie WECF (Women in Europe for a Common Future). Uit de gevoerde discussies blijkt onder andere, dat er buitengewoon weinig kennis is over de gender dimensie in milieu en gezondheid. Het gaat hier met name om verschillen in belasting, verschillen in gevoeligheid en reproductieve gezondheid (4).

Een onderwerp, waar iets vergelijkbaars speelt, is het geneesmiddelenonderzoek. Daar is het diermodel overwegend mannelijk en in het klinisch onderzoek overweegt de mannelijke proefpersoon. Dit onderwerp mag zich in een toenemende belangstelling verheugen (7, 15, 18).

## **Kennistekort in fundamenteel onderzoek**

Over gender in gezondheid en milieu is maar weinig te vinden in de wetenschappelijke literatuur, zowel wat betreft biologische verschillen in gevoeligheid als wat betreft verschillen in expositie (14). Alleen reproductietoxicologie is voor vrouwen en vrouwelijke dieren goed onderzocht, maar daar ontbreekt weer een heleboel kennis over mannen. In fundamenteel fysiologisch onderzoek is de mannelijke rat veruit het populairste proefdier. Meer fundamenteel onderzoek aan vrouwelijke proefdieren zou daarom belangrijk kunnen zijn, om op langere termijn het kennistekort over genderverschillen in gevoeligheid in te lopen.

### **Neurotoxische stoffen, immuunsysteem en normen**

Dankzij arbo en milieuregelgeving komen acute vergiftigingen in geïndustrialiseerde landen steeds minder voor. Binnen het beleidsterrein gezondheid en milieu verschift de aandacht steeds meer naar chronische blootstelling aan lage concentraties van een veelheid van stoffen en andere mogelijk belastende factoren, zoals electromagnetische velden. Hierbij is een veel gehanteerd 'eindpunt' de toename aan diverse soorten kanker.

Uit epidemiologisch onderzoek blijkt echter, dat veel stoffen een effect op het centraal zenuwstelsel hebben. Samen veroorzaken zij als het ware vroegtijdige veroudering van het centraal zenuwstelsel (8).

Onder de giftige stoffen, die rechtstreeks in het milieu gebracht worden, nemen landbouwbestrijdingsmiddelen kwantitatief de belangrijkste plaats in. Insecticiden, en voor een belangrijk deel ook fungiciden en herbiciden, werken vaak als zenuwgiften. Met andere woorden, er is chronische belasting met neurotoxische stoffen, waarvan de lange termijn effecten nog niet duidelijk in beeld zijn. Kanker als eindpunt voor chronische belasting is gezien de gevoeligheid van het centraal zenuwstelsel misschien niet de beste keus.

Het immuunsysteem speelt een belangrijke rol in de verdediging van het lichaam tegen toxische belasting. Naarmate de bevolking ouder wordt, gaat het immuunsysteem functioneel achteruit. Bij jonge kinderen functioneren allerlei ontgiftingssystemen in veel mindere mate dan bij volwassenen (1, 13).

Tussen mannen en vrouwen bestaan aanzienlijke verschillen in anatomie en organisatie van het centraal zenuwstelsel. Daarnaast is er aanzienlijke genetische variatie in gevoeligheid voor tal van stoffen, ook bijvoorbeeld tussen rassen (zie het rapport van Margriet van der Pol-Meijer)

Maar om dat fundamenteel onderzoek gedaan te krijgen, is het eerst nodig, dat er bij de onderzoekers interesse ontstaat voor vraagstukken, waar gender belangrijk is. Het onderwijs leek een geschikt startpunt om belangstelling te wekken. Daarom is subsidie aangevraagd bij universitaire emancipatiecommissie voor een project over gender in het biologisch onderwijs aan de Afdeling Biologie van de RUG.



Voor WECF is milieu-onderzoek en milieutoxicologisch onderzoek het meest belangwekkend, maar daar houdt de Afdeling Biologie aan de RUG zich niet mee bezig. Het medisch biologisch onderzoek en onderwijs richt zich op de fysiologie van hersenen en gedrag.

Rechtstreekse bijdragen aan de door WECF verlangde soort kennis is van dit project dus niet te verwachten. Het belang is meer indirect: het gaat om het belang van gender in het biologisch onderwijs en (uiteindelijk) fundamenteel onderzoek.

# Referenties

1. Bus, J., A. Stijkel, 1992. Het kind van de rekening : over schade aan de voortplanting en het nageslacht door het werken met chemische stoffen. Amsterdam, FNV pers/ Chemiewinkel.
2. Colborn;Th, D.Dumanoski; J.P.Myers, 1996. Our stolen future : are we threatening our fertility, intelligence and survival? : a scientific detective story. Dutton, New York.
3. Den Hond, E, H. A. Roels, K.Hoppenbrouwers, T. Nawrot,T Lutgarde, C.Vandermeulen, G.Winneke,D.Vanderschueren, J.A. Staessen, 2002. Sexual Maturation in Relation to Polychlorinated Aromatic Hydrocarbons: Sharpe and Skakkebaek's Hypothesis Revisited. Environmental Health Perspectives Volume 110, Number 8, August 2002
4. Gabizon, S., 2001. Report of the Women's networking workshop held during the Green Week on 28 April 2001 Brussels. WECF, Utrecht.
5. Gender mainstreaming in het VROM-beleid. Nederlandse Vrouwenraad, <http://www.vrouwen.net/nvr/cdo/data/19.html>. Datum download: 29 augustus 2002.
6. Houlihan, J., C.Brody, B. Schwan, 2002. Not too pretty. Phthalates, beauty products and the FDA. Environmental Working Group, Washington. <http://www.ewg.org>.
7. Jong, G.W. 't, 2002. Unlicensed and off-label drug use in children. Diss Erasmusuniversiteit Rotterdam.
8. Kilburn, K.H., 1998. Chemical brain injury. Wiley, New York.
9. Koppe, J.G, J.Keys, 2001. PCBs and the precautionary principle. In: Late lessons from early warnings. European Environment Agency, Copenhagen.
10. Koppe, J.G., G. ten Tusscher, P.de Boer, 1999. Background xposure to dioxins and PCBs in Europe and resulting health effects. In: Butter, M.E. (ed.), Sustainable Development and women's health. Biologiewinkel RUG, rapport 50.
11. Meerjarenbeleidsplan Emancipatie, 2000. Den Haag, ministerie Sociale Zaken en Werkgelegenheid.
12. Schettler, T, G.Solomon, M.Valenti, A.Huddle, 1999. Generations at risk: Reproductive health and the environment. MIT Press, Cambridge (Mass.).
13. Schettler, T., J.Stein, F.Reich, M.Valenti, D.Wallinga, 2000. In harm's way: toxic threats to child development (Cambridge, Mass.: Greater Boston Physicians for Social Responsibility [GBPSR], GBPSR, Cambridge (Mass.)/ <http://www.igc.org/psr/ihwrept/ihwcomplete.pdf>.
14. Sims, J., M.E. Butter, 2002. Health and environment: Moving beyond conventional paradigms. In: Sen, G., A. George, P. Östlin, P. Engendering international health, (pp 195-220). MIT Press, Cambridge, Mass.
15. Stolker, J.J., 2002. Struggles in prescribing : determinants of psychotropic drug use in multiple clinical settings. Diss, Universiteit Utrecht.
16. Van Beckhoven, A., 2000. Emancipatie in beleid: Handleiding Mainstreaming Den Haag : Ministerie van Sociale Zaken en Werkgelegenheid, Directie Coördinatie Emancipatiebeleid
17. Vaststelling van de begroting van de uitgaven en de ontvangsten van het Ministerie van Volksgezondheid, Welzijn en Sport (XVI) voor het jaar 2002. Tweede Kamer, vergaderjaar 2000-2001, 27400XVI, no 6.
18. Wieringa, N.F., 2001. Connecting pre-marketing clinical research and medical practice: The case of cardiovascular drugs. Diss. Rijksuniversiteit Groningen, 2001.



## **Gender in medisch/ fysiologisch biologisch onderzoek**

**Sekse bias in humane en dierexperimentele publicaties**

Margriet M. Th. van der Pol-Meijer



# 1 Inleiding

Naast fundamenteel onderzoek is veel wetenschappelijk onderzoek gericht op humane pathologie en ontwikkeling van testmethoden en medicatie. Een belangrijke onderzoeksmethode is het werken met proefdiermodellen. Er lijkt weinig aandacht te zijn voor genderverschillen in deze vakgebieden en hoewel de doelgroep van onderzoek uit twee geslachten bestaat en er nogal veel fysiologische verschillen en verschillen in pathologie bestaan tussen mannen en vrouwen, wordt het merendeel van deze dierproeven gedaan met mannetjesdieren.

Experimenten met het onderzoek naar sekse verschillen als doel op zichzelf omvatten meerdere mogelijkheden waaronder (gonade) geslachtsklier verwijdering gevolgd door hormoonsubstitutie, vergelijkende studies, laesie experimenten, farmacologische provocaties en het bestuderen van schommelingen in de reproductieve cyclus. In het algemeen echter komen complexe gedragsresponsen niet tot uiting door gonadectomie in het volwassen stadium met hormoon suppletie (Kelly et al).

Het mannelijke dier wordt echter nog steeds gezien als een redelijk model, ook voor de vrouwtjes van de soort. Er is een behoorlijke discrepantie tussen het feit dat de meeste proefpersonen/dieren jong zijn en van het mannelijk geslacht en de doelgroep van veel onderzoek soms vooral vrouwen betreft. Het veronachtzamen van geslachtsverschillen leidt soms tot de meest vreemde conclusies.

## **Voorbeeld: Seksegebonden bijwerkingen van Lariam**

In een onlangs verschenen proefschrift (M. van Riemsdijk Erasmus Universiteit) over de psychische bijwerkingen van het antimalaria middel mefloquine (® Lariam) blijkt dat het risico op deze bijwerkingen vooral (magere) vrouwen betreft en met name vrouwen met een psychiatrische voorgeschiedenis. De verklaring die gegeven werd was het verschil in hersenvolume tussen mannen en vrouwen. (NRC 10-2-2001)

In een tijd waarin we allang weten dat er grote man/ vrouw verschillen zijn in neurotransmitter systemen die te maken hebben met psychiatrische mechanismen lijkt deze conclusie wel erg simpel.

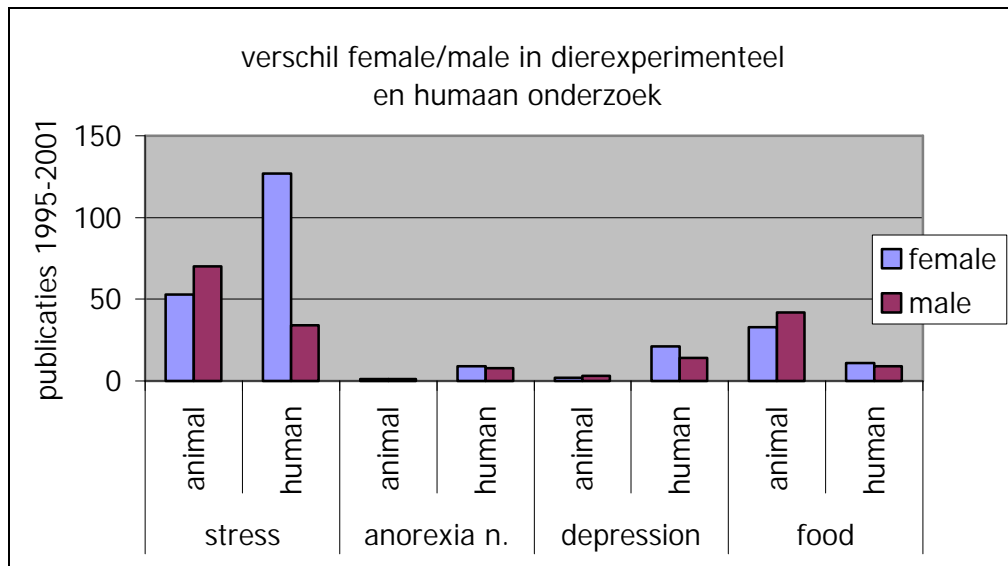
Zou het middel niet eerder een verstoring in het serotonine of dopamine systeem kunnen induceren?

In de medische wereld vindt men in toenemende mate dat de tot nu toe geaccepteerde sekse bias niet meer kan. Onder druk van de feministische actiegroepen (vooral in de V.S.) en de macht van de patiëntenverenigingen is er een kentering gaande en wordt er meer gendergericht onderzoek gedaan.

In ieder geval is dat zo in de humane gezondheidszorg. Maar volgt het dierproef onderzoek deze trend ook?

## **Literatuuronderzoek in medische database Pubmed**

Een kwantitatief literatuuronderzoek op Pubmed (database medische publicaties) voor enkele keywords die specifiek op vrouwen betrekking hebben, laten voor de humane publicaties en fundamenteel dierexperimenteel onderzoek een duidelijk verschil in / verdeling zien. Bij vrouwspecifieke onderwerpen als stress, depressie, anorexia nervosa en voedsel verwacht je een groter aantal artikelen met het woord female in de titel. Bij humaan onderzoek blijkt dat inderdaad zo te zijn. Bij dieronderzoek daarentegen, blijft het aantal experimenten waarin vrouwtjes gebruikt worden achter.



Grafiek 1: Kwantitatief literatuuronderzoek Pubmed van de laatste 5 jaar. Het verschil tussen humaan en dierexperimenteel onderzoek met betrekking tot het geslacht.

Om een antwoord te vinden op de vraag *waarom* deze discrepantie bestaat moet er vanuit twee invalshoeken naar dit gegeven gekeken worden. Op de eerste plaats rijst de vraag in hoeverre gendergericht onderzoek maatschappelijk van belang is. Met andere woorden, is er behoefte aan gerichte aandacht voor de verschillende geslachten in de gezondheidszorg, met name vrouwelijke pathologie en medicatie en de consequenties van milieuvervuiling? Op de tweede plaats moet het proefdieronderzoek nader bekeken worden. Waarom wordt er meer met mannetjesdieren gewerkt? Wat zijn de voor- en nadelen van het werken met vrouwtjesdieren?

De behoefte aan meer gendergericht onderzoek is niet alleen gebaseerd op een gebrek aan aandacht voor vrouwen. Beide geslachten kunnen baat hebben bij specifiek geslachtgericht onderzoek. De fysiologische verschillen, (hormonaal, metabolisch en farmacologisch) zijn immers voor beide geslachten belangrijk. Ook de toxicologische en pseudo- hormonale invloeden van het milieu (milieuvervuiling) moeten niet onderschat worden en behoeven meer onderzoek.

In hoofdstuk 1 wordt de huidige stand in het biologisch en medisch onderzoek met betrekking tot de geslachtsverschillen nader bekeken. In hoofdstuk 2 wordt aandacht besteed aan de milieu-aspecten in relatie tot gender. Als laatste hoofdstuk zullen de dierproeven vanuit verschillende invalshoeken benaderd worden. (onderzoekers/farmaceutische industrie/proefdierfokkers-wettelijke/economische en ethische aspecten)

## 2. Genderverschillen en het biologisch/medisch onderzoek

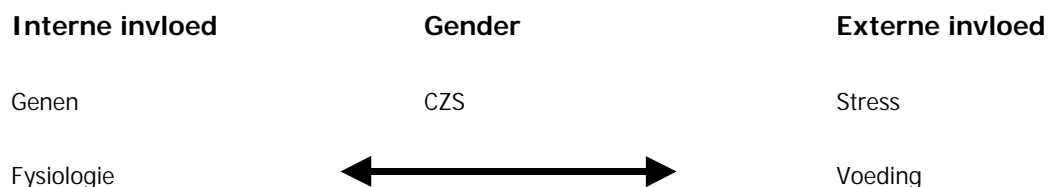
### 2.1 GENDER: historische/maatschappelijke aspecten

Het begrip gender is niet gelijk aan het begrip sekse in biologische zin. De term “gender” refereert aan de sociaal-culturele betekenis die aan de biologische sekse wordt toegekend in de samenleving.

Het gebruik van de begrippen sekse en gender is gebaseerd op biologische en maatschappelijke aspecten. Zo is de eerste vraag naar verschillen tussen mannen en vrouwen al gebaseerd op een (veronderstelde) tegenstelling: “wat beïnvloedt wat”. Wordt mannelijk en vrouwelijk (vaderlijk en moederlijk) gedrag bepaald door de maatschappij (het gedrag van anderen) of is er een biologische oorzaak? Gedrag en identiteit ontwikkelen zich echter in interactie met zowel interne als externe factoren, en de vraag *hoe* gedrag zich ontwikkelt, via welke processen, levert zinvoller onderzoek op dan de aloude ‘*nature versus nurture*’ tegenstelling.

De wederzijdse invloeden zijn bovendien dermate essentieel, dat er uiterst voorzichtig omgesprongen moet worden met een scheiding tussen de begrippen biologisch en maatschappelijk. Om vergelijkbare redenen is het scheiden van geno- en fenotype uiterst precair. Vaak wordt ervan uitgegaan dat levensstijl van meer invloed is op pathologie dan ‘biologische factoren’. Dat geldt voor algemene individuele verschillen tussen mensen, maar zeker ook voor de verschillen tussen mannen en vrouwen.

#### Genderidentiteit in relatie tot interne en externe factoren



Seksespecifiek gedrag is dus niet uitsluitend bepaald door X of Y chromosomen, ook niet bij dieren. Men kan onderzoeken, hoe bepaalde seksspecifieke gedragingen tot stand komen, en daarbij kijken naar zowel interne als externe factoren. Niet alleen verschillen in gedrag, maar ook verschillen in fysiologie ontwikkelen zich in interactie met de omgeving.

#### Genderverschillen en de omgeving

Sekseverschillen in dieren en mensen, in de ruimste zin des woords, worden niet alleen gevormd door biologische factoren maar ook vanuit de omgeving. Bijvoorbeeld bij knaagdieren verschilt de moederlijke zorg voor de pups. Zij likt de anogenitale streek van haar zoons meer dan van haar dochters. Deze stimulatie is niet alleen bevorderlijk voor de lozing van urine en faeces, maar ook voor de neurale ontwikkeling van de hersenmechanismen die zorg dragen voor de seksuele functie en gedrag bij mannetjes.



Voor beide seksen geldt dat deze anogenitale stimulatie de HPA respons op stress doet afnemen. Deze afname correleert met de sekseverschillen in stress respons. Mannetjes worden meer gelikt en hebben een lagere stress respons in vergelijking met vrouwtjes. Het afscheiden van de moeder heeft voor de vrouwtjes een verhoging van de stressgevoeligheid tot gevolg.

Ook bij mensen blijken er nog steeds grote verschillen te zijn in de perceptie van de moeder voor zonen of dochters. Ook vaders reageren verschillend in hun gedrag ten opzichte van zonen of dochters. Deze verschillen in de benadering van hun kinderen werden gevonden bij verschillende culturen en ook bij rhesusapen (Kelly et al. 1999).

Bij de gewone zeehond (*Phoca vitulina*) is er een sekseverschil in lactatiegedrag. Zonen vragen meer melk/nabijheid dan dochters. Het is dus de pup die verantwoordelijk is voor dit sekseverschil en niet de moeder. Zoons drinken vaker, maar per keer niet langer. Gewicht of grootte van de moeder heeft geen invloed. Dit soort sekseverschillen zijn biologisch te verklaren door de verschillende selectiedruk om groot te worden. De reproductieve fitness vereist een grotere man. Dit komt vaker voor bij seksuele dimorfie (verschil in grootte/ uiterlijk tussen mannetjes en vrouwtjes). De nauwverwante zadelrob (*Phoca groenlandica*) kent geen genderverschil in lactatiegedrag en geen seksuele dimorfie(17).

Vooraf aandoeningen die met specifiek gedrag gepaard gaan of een sterke geslachtsgebonden verdeling hebben zijn vaak het onderwerp van extreme meningsvorming en daardoor een bron van discussie. Aan de ene kant vindt men het moeilijk een genetische of fysiologische achtergrond te accepteren (bijv. feministen en homoseksuelen). Aan de andere kant wordt weleens driftig naar een fysiologische (pathologische) achtergrond gezocht om de eigen verantwoordelijkheid te bagatelliseren. Zijn lastige kinderen nu slecht opgevoed of hebben ze allemaal ADHD (aandachtstoornis samen met hyperactiviteit)? Waarom hebben meer jongetjes ADHD? Is dat omdat de maatschappij nog steeds meer van jongetjes verwacht of is er een fysiologische achtergrond? Of beide, natuurlijk.

Werden vroeger dyslectische kinderen nog weleens voor dom aangezien omdat ze maar niet wilde leren lezen; in deze tijd worden kinderen, die niet aan de eisen van hun ouders kunnen voldoen, nogal eens dyslectisch genoemd. De echte dyslexie (woordblindheid) kent echter een sterke genetische component met een duidelijke verdeling.

Wetenschappers worden wel beticht van ongefundeerd optimisme als er een genetische of fysiologische grond gevonden wordt voor een of andere aandoening. Het is evident dat beide extremen hun maatschappelijke gevolgen kennen, zowel in het verleden als nu.

### **'Misdaadgen' en de advocatuur**

In 1993 publiceerde Han G. Brunner, klinisch geneticus in Nijmegen, over een familie waarin sommige mannen een mutatie vertoonden in het gen voor monoamine-oxidase A gelegen op het X-chromosoom. Alle mutatiedragers waren licht mentaal gestoord en vertoonden daarbij onaangepast sociaal gedrag, gekenmerkt door impulsieve agressie en gewelddadigheid. Deze bevinding veroorzaakte een mediastorm in de V.S. Amerikaanse advocaten wilden hun criminele cliënten laten testen voor deze gen-variant. Het bewijs van een genetisch defect zou deze cliënten immers vrijpleiten van bewuste schuld, aangezien ze werden geleid door hun genetische aanleg.

Onderzoek naar genetische en fysiologische achtergronden van sociaal gedrag heeft in het verleden vaak geleid tot discriminatie van minderheden, rassen en geslachten.

Wetenschappelijke ontdekkingen leiden vaak tot publieke misverstanden. Zo werd bijvoorbeeld de ontdekking van overeenkomsten tussen vrouwelijke en homoseksuele hersenen en het zoeken naar fysiologische/genetische verschillen door homoseksuelen met kracht bestreden uit angst voor genetische manipulatie en angst voor toekomstige abortussen van homoseksuele foetussen.

Het verschil tussen mannelijke en vrouwelijke hersenen wordt niet altijd even enthousiast ontvangen in kringen die emancipatie hoog in het vaandel dragen. In de jaren zeventig werd een wetenschapper nog voor fascist uitgescholden als hij een poging deed om een genetische of fysiologische achtergrond te suggereren over een onderwerp als bijvoorbeeld intelligentie of genderidentiteit. Vooral de linkse politiek en sociale wetenschappers, sociologen en psychologen, zagen de maatschappij als belangrijkste invloed op de ontwikkeling van een kind. Deze zienswijze was gedeeltelijk gebaseerd op de sterke scheiding tussen lichaam en geest (gevoed door de religie) en op de hoop iets aan de misstanden in de maatschappij te kunnen doen. Als de verschillen tussen jongens en meisjes in de opvoeding opgeheven werden zouden de kansen voor vrouwen op bijvoorbeeld de arbeidsmarkt een stuk groter worden. Ook feministische groeperingen hebben zich schuldig gemaakt aan het in stand houden van het taboe en het ontkennen van biologische verschillen in hun strijd om de maatschappelijke gelijkheid te bereiken.

### **Opvoeding en genderidentiteit: een extreem voorbeeld**

Onderzoeker Money heeft in de jaren zeventig eens een kind beschreven, een jongetje, John, die na een mislukte penisoperatie op de leeftijd van 9 maanden als meisje is opgevoed. In die tijd was de dominante opvatting dat de maatschappij de genderidentiteit bepaalde en dat het mogelijk was om via de invloed van de omgeving, als het maar vroeg genoeg gebeurde, van een jongetje een perfect meisje te maken. Het geval is in de handboeken omschreven als hét bewijs dat de mens bij de geboorte een *tabula rasa*, een onbeschreven blad, is. Later is het kind weer terugveranderd in een jongen en hij is met een vrouw getrouwd. Het blijkt dus dat zelfs met een enorme invloed van de omgeving de genderidentiteit van een kind moeilijk te veranderen is.

Daarentegen blijkt dat zwangere vrouwen die ter bestrijding van epilepsie fenobarbital – een stof die ingrijpt op het metabolisme van geslachtshormonen – toegediend kregen, in een verbazingwekkend hoge frequentie transseksuele kinderen kregen. (Dick Swaab in Neuvel, K: Wee de genen)

Niet alleen de verschillen tussen de geslachten zijn omringd met taboes en hebben mede daardoor een wetenschappelijke benadering in de weg gestaan. Allerlei tegenstellingen en verschillen tussen mensen hebben last van taboes. Rasverschillen zijn in de jaren zestig erg misbruikt om de armoede van de negers te verklaren. De (blanke) I.Q. testen die in die tijd werden gebruikt om aan te tonen dat negers “dommer” zijn dan blanken zijn berucht. Biologische en sociaal-wetenschappelijke hypothesen over gedragsverschillen tussen mannen en vrouwen zijn in het verleden door vertegenwoordigers van beide geslachten misbruikt om de vrouwen in hun verzorgende taken te laten vastroesten of hen daar juist van te bevrijden. Dat behoort geen beletsel te zijn voor nader onderzoek, maar noopt des te meer tot zorgvuldigheid.

Onbehoedzame en onevenwichtig opgebouwde beweringen over nieuwe inzichten zijn, eenmaal door de media opgemerkt, moeilijk te corrigeren. Angst hiervoor heeft echter ook nadelen. Het leidt tot negeren van belangrijke onderzoeksonderwerpen en tot geheimzinnigheid over ontdekkingen die maatschappelijk gevoelig liggen. Een voorbeeld van zo’n gevoelige kwestie is het debat over (nog?) niet erkende ‘nieuwe’ ziektes als Myalgische Encephalomyelitis (M.E.) of Chronisch Vermoeidheidssyndroom (CVS), fibromyalgie (een reumatische aandoening, die vooral bij vrouwen voorkomt) whiplash (neklachten en geheugenstoornissen na een auto ongeluk) en het instabiele bekkenyndroom (pijnlachten na een bevalling). Zijn zij het product van de publieke opinie, of liggen er aanwijsbare fysiologische of neurologische mechanismen aan ten grondslag?

Op dit gebied zijn er vreemde dingen vertoond in het verleden. Gastritis (maagzweer) was een managersziekte. Druk, stress en te weinig ontspanning zouden de oorzaak zijn. In de 19e eeuw was het echter een ziekte die veel voorkwam bij dienstbodes. (Ook druk, stress en te weinig ontspanning?) Vanwaar het geslachtsverschil? Vroeger vooral een vrouwenziekte, later vooral een mannenziekte en nu een bacteriologische aandoening die goed te bestrijden is met antibiotica. Niemand ontkent dat

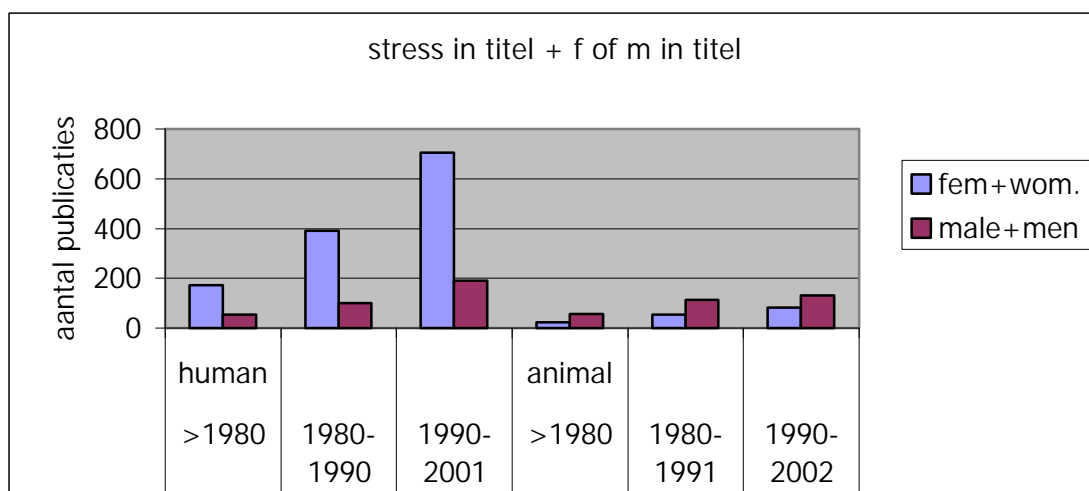
omgevingsfactoren een rol spelen maar de bacterie *Helicobacter pylori* blijkt toch echt de hoofdschuldige.

Ook de ziekte *Anorexia nervosa* (meer meisjes dan jongens lijden aan deze ziekte) is lang alleen toegeschreven aan repressieve ouders (met name moeders!) of een dwingend slank modebeeld. Nu wordt er echter steeds meer onderzoek gedaan naar neurochemische stoornissen en blijkt een verstoring van het serotonine-systeem een grote rol te spelen.

Een ziekte, gedrag, kan ook meerdere oorzaken hebben. Zo kan migraine veroorzaakt worden door een genetische stoornis in calciumkanalen. Het kan ook veroorzaakt worden door een hoofdtrauma, de zogenaamde voetballers migraine. Maar van de meest voorkomende vorm van migraine, een stoornis in het CZS met een hoge / ratio, is nog helemaal niet duidelijk waar de oorzaak ligt.

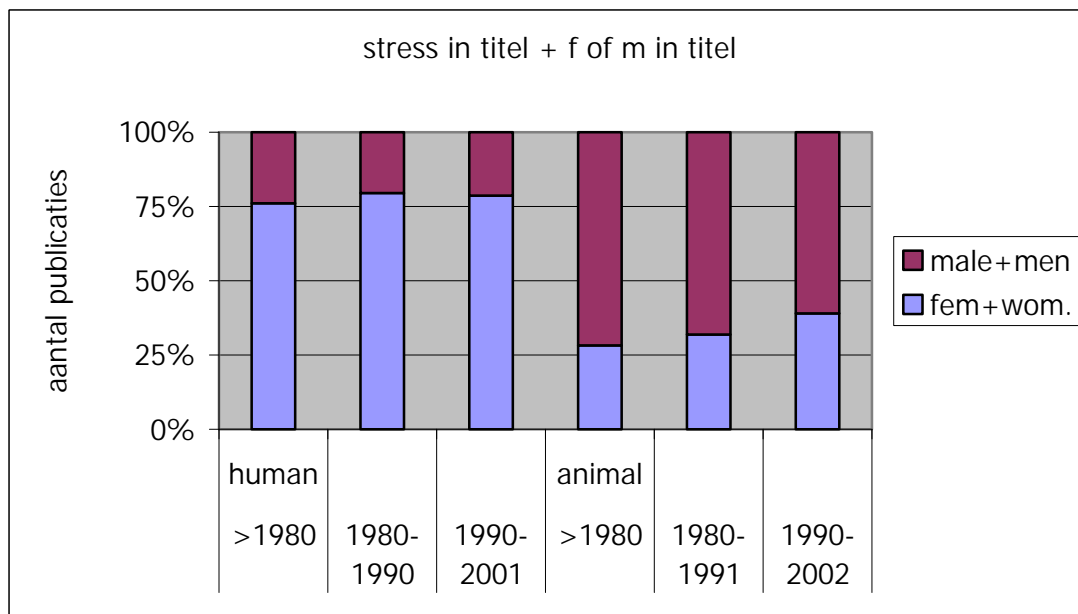
## 2.2 Kwantitatief publicatie onderzoek op PUBMED

Het onderzoek naar de relatie tussen gedrag en fysiologie in het algemeen kent dus al veel tegenstellingen. Veel van deze onderzoeksonderwerpen kennen een gendersverschil, waar nog relatief weinig aandacht aan besteed wordt. Om een en ander kwantitatief te ondersteunen geeft een publicatie research op Pubmed een redelijke indicatie over de aandacht voor gender en de verschillen tussen humane en dierexperimentele publicaties.



Grafiek 2: Stijging humane publicaties met geslachtsaanduiding in de titel t.o.v. dierexperimentele, in de loop der jaren. Zie ook grafieken 6 en 7

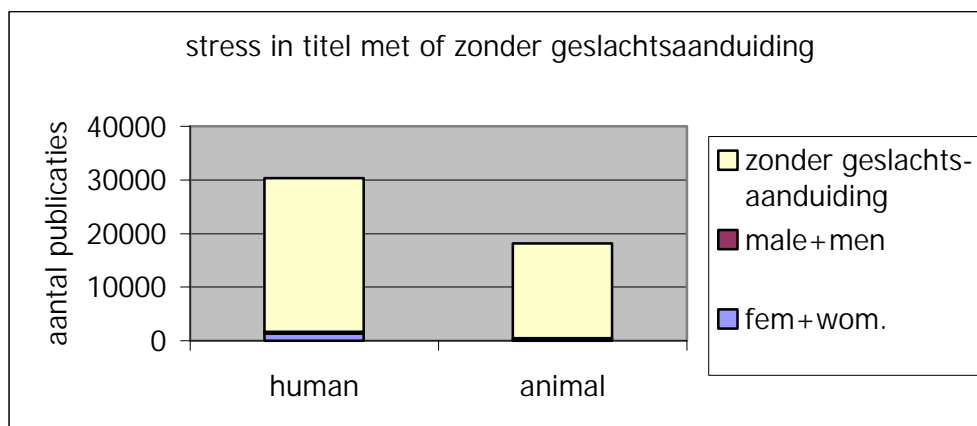
In grafiek 2 is een algemene stijging te zien van humane publicaties waarin het woord “stress” en het woord “female” of “women” in de titel genoemd wordt. Er is een kleine overlap door artikelen die zowel female als male in de titel vermeld hebben. Duidelijk is dat de / ratio reciproque is voor humane en dierexperimentele publicaties. (Zie ook grafieken 6 en 7).



Grafiek 3: Percentuele verdeling male/female in titel samen met "stress" in titel.

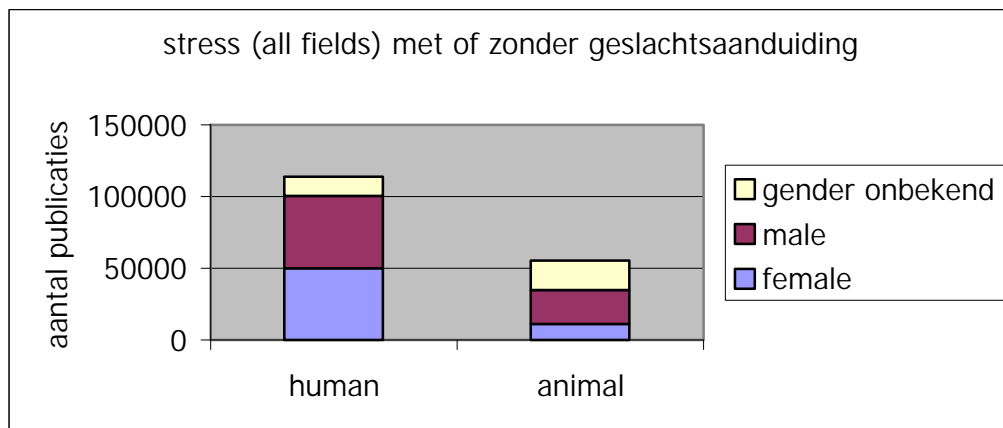
In grafiek 3 is een percentuele verdeling van dezelfde publicaties te zien. In de loop der jaren verandert er percentueel niet veel. In latere grafieken is daarom het onderscheid in jaar van publicatie weggelaten.

Om te laten zien dat er in ieder geval in de titel geen aandacht is voor het geslacht (dus het geslacht is waarschijnlijk geen onderwerp van onderzoek) is in grafiek 4 het aandeel met of zonder geslachtsaanduiding weergegeven.

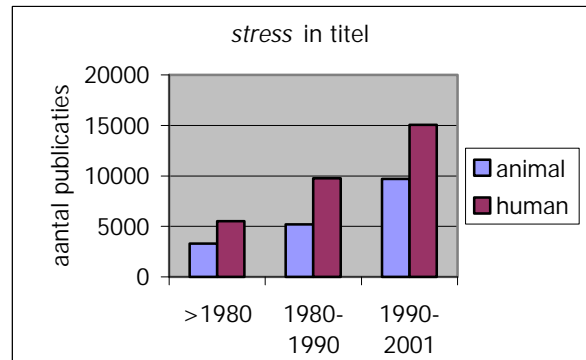
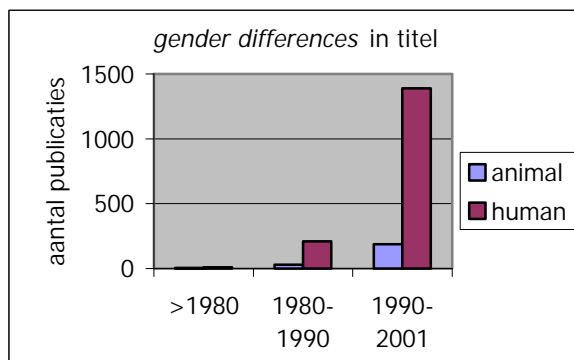


Grafiek 4: Aandacht voor gender; gerelateerd aan geslachtsaanduiding in titel

Voor grafiek 5 is gebruik gemaakt van de limit instelling (=beperking van de zoekopdracht) van de database. Het aantal publicaties over stress is dan natuurlijk veel groter (bijna 120.000) dan alleen de publicaties waarin het woord stress in de titel voorkomt (30.000). In de humane publicaties is er een klein gedeelte waar geen onderscheid in geslacht gemaakt wordt. Bij de dier- experimentele publicaties is dat een veel groter gedeelte en het is erg waarschijnlijk dat er uitsluitend mannetjes gebruikt zijn voor deze "gender onbekend" onderzoeken.



Grafiek 5: Pubmed limit gender/male/female. Het verschil tussen humane en dierexperimentele publicaties.



Grafiek 6 en 7: Verschil in aantal humane en dierexperimentele publicaties voor twee verschillende onderwerpen.

Om nogmaals te laten zien dat er een groei te constateren is, vooral in humane artikelen, met aandacht voor man/vrouw verschillen zijn de grafieken 6 en 7 te vergelijken. De aandacht voor genderverschillen (grafiek 6) is in de klinische wetenschap veel groter geworden de laatste jaren dan in de pre-klinische onderzoeken. Voor een onderwerp als stress (grafiek 7) is de groei gelijk.

### 3 Genderidentiteit: ontwikkeling

Experimenten met het onderzoek naar sekse verschillen omvatten meerdere mogelijkheden waaronder (gonade) geslachtsklier verwijdering gevolgd door hormoonsubstitutie, vergelijkende studies, laesie experimenten, farmacologische provocaties en het bestuderen van schommelingen in de reproductieve cyclus. In het algemeen echter komen complexe gedragsresponsen niet tot uiting door gonadectomie in het volwassen stadium, gevolgd door hormoon suppletie (Kelly et al). Mannelijkheid, of vrouwelijkheid, ontwikkelt zich vanaf de bevruchting en laat zich, eenmaal gevestigd, niet zomaar wijzigen.

*Het grootste verschil in de sekse van zoogdieren is de expressie van de genen op het Y chromosoom, waarvan de eiwit producten de differentiatie van de geslachtskenmerken in de testes van de mannelijke foetus bevorderen. Hierdoor wordt de verdere hormonale ontwikkeling gestuurd zodat de mannelijke foetus uiteindelijk een volwassen man wordt.*

Er is echter enig bewijs dat er ook andere chromosomale /genetische gebeurtenissen zijn die onafhankelijk van de testes eveneens een mannelijke differentiatie veroorzaken. In sommige soorten ontstaat n.l. de seksuele differentiatie en wordt de sex ratio bepaald vóórdat de aanleg van de gonaden is gerealiseerd. Vervolgens zijn er verschillen in het moederlijke en vaderlijke aandeel in de ontwikkeling van bepaalde hersengedeelten die op hun beurt weer de oorzaak kunnen zijn van verschillen tussen de seksen. De hypothalamus is hier een voorbeeld van, die zich langs andere specifieke gender lijnen ontwikkelt zonder invloed van de geslachtsklieren (Kelly et al).

#### **Hormonen sturen SDN-POA ontwikkeling**

De SDN-POA, (sexual dimorphic nucleus-pre optic area) is bij mannetjes 5x groter dan bij vrouwtjes. Bij vroeg gecasteerde mannetjes blijft de POA klein en bij jonge vrouwtjes die testosteron krijgen wordt de POA groter. Hormoonbehandeling op volwassen leeftijd heeft geen effect (Kelly et al).

Over het algemeen bepalen de sekshormonen de seksuele differentiatie van de hersenen. Bij ratten begint de invloed van de geslachtshormonale hersendifferentiatie vanaf de 18e dag van de zwangerschap tot aan de 2e week na de geboorte.

Het mannelijk hormoon testosteron bepaalt de seksuele differentiatie van de hersenen. Er zijn twee pieken van testosteron gedurende de ontwikkeling van een jongetje: halverwege de zwangerschap en vlak na de geboorte. Het mannelijk hormoon werkt voor een belangrijk deel in op de hersenen nadat het is omgezet in oestrogenen. *De hersenen “vermannelijken” dus door vrouwelijke hormonen.* Ook “pseudohormonen”, stoffen die aangrijpen op de hormoonreceptoren, kunnen de ontwikkeling van de gender identiteit beïnvloeden

#### **Fenobarbital en transseksualiteit**

Zwangere vrouwen die ter bestrijding van epilepsie fenobarbital – een stof die ingrijpt in het metabolisme van geslachtshormonen - toegediend krijgen, hebben een grotere kans op transseksuele kinderen. (D.Swaab)

Bij meisjes gebeurt niet iets vergelijkbaars, zij hebben noch rond de zwangerschap noch rond de geboorte hoge spiegels geslachtshormonen. Op latere leeftijd spelen die geslachtshormonen niet zo’n belangrijke rol meer. Hormoonbehandelingen bij volwassenen (bijvoorbeeld in het kader van

“genezingstherapieën” bij homoseksuelen en transsexuelen) hebben nooit enig effect gehad op de seksuele oriëntatie.

De tijdstippen waarop de twee testosteronpieken plaatsvinden luisteren heel nauw en moeten op die momenten plaatsvinden dat de hersencellen en -systemen waar het om gaat, daarvoor het meest ontvankelijk zijn. Verschuivingen in deze gebeurtenissen zouden de oorzaak kunnen zijn van verschillen in seksuele oriëntatie en transsexualiteit. Dit zou ook verklaren waarom er meer mannelijke homoseksuelen en transsexuelen zijn. Wanneer de testosteronpiek achterwege blijft of op het verkeerde moment plaatsvindt, bestaat de kans dat iemand die genetisch een man is een anderssoortige hersenontwikkeling doormaakt. Bij vrouwen speelt dat probleem niet zo, als er niets gebeurt differentiëren de hersenen zich sowieso in vrouwelijke richting. Bij mannen is de kans dat er iets misgaat groter dan bij vrouwen.

Maar een *teveel* aan testosteron heeft wél effect op vrouwen. Er zijn meisjes die een bijnierafwijking (CAGS-congenitale bijnierhyperplasie, Dr.F.Slijper, Rotterdam) hebben waardoor ze teveel testosteron maken; die meisjes hebben een sterk verhoogde kans om lesbisch te worden. Datzelfde geldt ook bij de zogenaamde DES dochters.

### **DES en aangeboren afwijkingen**

DES(Diëthylstilbestrol, een synthetisch oestrogeen) is een weeënremmer die in de jaren '47-'75 werd toegepast om miskramen te voorkomen bij zwangeren met voortijdige weeën-activiteit. De kinderen, zonen zowel als dochters hebben meer kans op genitale afwijkingen en vruchtbaarheidsstoornissen.

Bij vrouwtjesratten geeft op de 5e levensdag toegediende testosteron een levenslange afwezigheid van de reproductieve cyclus (Kelly et al). De vrouwtjes worden niet alleen onvruchtbaar, maar ze hebben ook geen ovulatie en ze vertonen geen paargedrag in de aanwezigheid van mannetjes. Deze onvruchtbaarheid en bijbehorend gedrag kunnen niet meer ongedaan gemaakt worden door het toedienen van progesteron en oestrogeen. Het is waarschijnlijk dat deze vroege behandeling de gevoeligheid van de hersenen verandert. Deze vroege effecten van hormonen worden geregeld door een combinatie van factoren, o.a. de receptor-dichtheid, de lokale aanwezigheid van transcriptie factoren en aromatase of á-reductase, een enzym dat nodig is voor de hormoon-receptor binding. Geslachtshormonen vermannelijken en ontvrouwelijken de hersenen, het ruggemerg, de perifere doelwit-organen en het gedrag, door het reguleren van zowel de structuur als de functie.

### **Vermannelijking bij rundertweelingen**

Als een tweeling van verschillend geslacht (koeien) wordt geboren, is de kans groot dat het vaarskalf een kween is (meer dan 90 procent). Als de tweeling van ongelijk geslacht is, ontvangt de vrouwelijke vrucht via het bloed mannelijke hormonen, omdat deze hormonen eerder vrijkomen dan de vrouwelijke. Hierdoor ontwikkelt het geslachtsorgaan zich niet normaal, wat onvruchtbaarheid tot gevolg heeft. Een dergelijke in aanleg onvruchtbare koe is een kween (Gezondheidsdienst voor Dieren).

Ook stress is een factor die de seksuele oriëntatie beïnvloedt. De stress van de moeder verlaagt namelijk het testosterongehalte van het jongetje in de baarmoeder. Zowel bij de rat als bij de mens is dat zichtbaar en dat heeft een permanente invloed op de hersen-ontwikkeling en dus op het gedrag. De geslachtsverschillen tussen ratten en ratten in het gebied van de seksueel dimorfe kern verdwijnen als de zwangere rat vlak voor de bevalling blootgesteld is aan stress. Mannetjesratten blijken zich dan aangetrokken te voelen tot andere mannetjes. (D.Swaab in ref. 12)

Zie ook referentie 5 voor gender afwijkingen (genetisch en fysiologisch) bij mensen.

Hersengebieden die niet direct iets met de reproductie te maken hebben kunnen ook seksueel dimorf zijn. De hippocampus, belangrijk in leer- en geheugen-taken en stress respons is ook seks-gedifferentieerd. De ruimtelijke oriëntatie bij vrouwtjes is minder in de pre-oestrus stadium als de oestrogene spiegel het hoogst is (Kelly et al). Mannetjes doen het beter in het Morris-water-doolhof. Castratie van jonge mannetjes en het toedienen van estradiol aan vrouwtjes veranderen deze leercurves. Manipulaties met oestrogene hebben ook invloed op het uitvoeren van deze ruimtelijke leertaak. Ook bij mensen is aangetoond dat vrouwen die prenataal aan meer mannelijke hormonen zijn blootgesteld een beter ruimtelijk inzicht hebben.

Kortom, er zijn verschillen in agressie, loop-wiel en open-field activiteit, smaakvoorkeuren, productie van en respons op geuren, reactie op schadelijke stimuli, voedsel en gewicht regulatie, speel-gedrag en leer- en geheugen testen.

De effecten van hormonen op de organisatie van het hele organisme worden hoofdzakelijk bepaald door de genetische aanleg. De binding van hormonen aan intracellulaire steroidreceptoren zet een cascade van gebeurtenissen in werking die bijdragen aan de ontwikkeling van seksueel dimorfe hersenen. Steroidreceptoren en hun bijbehorende eiwit complexen ondergaan vormveranderingen die van invloed zijn op hun bindingscapaciteit. Het in kaart brengen van de functies van intracellulaire steroidreceptoren laat zien dat de DNA binding domeinen uiterst geconserveerd zijn terwijl de carboxyl-uiteinden die de bindingsplaatsen en transcriptie-activiteit bepalen meer variatie vertonen. Zulke veranderingen resulteren in verschillende anatomische en neurochemische verbindingen en een andere regeling van gen-expressie en de bijbehorende eiwitniveaus. De effecten van steroïden gedurende de ontwikkeling kunnen ook indirect zijn zoals bijvoorbeeld op het serotonerge systeem.

De neurotrofische effecten van geslachtshormonen lijken een rol te spelen in de ontwikkeling van sekseverschillen. Het toedienen van antilichamen tegen groeihormonen bij pasgeboren ratjes verhindert de mannelijke ontwikkeling. Ook dosis-afhankelijke toediening van oestrogenen beïnvloedt de groei van neuronen en maakt de communicatie tussen neuronen mogelijk door de ontwikkeling van spines, synapses en gap junctions (Kelly et al).





## 4 Gender en gedrag

### 4.1 Inleiding

Geslachtsafhankelijk gedrag in zoogdieren moet beschouwd worden als het eindresultaat van reciproke invloeden van genen, geslachtshormonen, hormonale aspecten die met de organisatie (lange termijn) en activatie (korte termijn) van de hersenen te maken hebben, ontwikkelings- en groei hormonen en uiteraard ook psychosociale omgevingsfactoren.

Voor een groot gedeelte zijn deze genetische, hormonale en omgevingsinvloeden bij zoogdieren voor beide seksen gelijk. Er zijn echter natuurlijk voorkomende afwijkingen en experimentele modellen die aangeven dat er wel degelijk sekseverschillen voorkomen in aanleg en in verschillende stadia van de ontwikkeling tot en met het volwassen stadium en de veroudering. Deze verschillen kunnen ons veel leren over genderverschillen.

Gender verschillen zijn gewoonlijk het resultaat van complexe interacties tussen de simpele directe tijdelijke invloed van schommelingen in de geslachtshormoonspiegel, ook wel het “activerende effect” genoemd en de meer blijvende invloeden op de organisatie van de steroïd hormonen. Genderspecifiek gedrag is gewoonlijk het resultaat van een complex van factoren, waarbij meerdere vormen en/of organisatieniveaus van sekseverschillen betrokken kunnen zijn.

Af en toe is het mogelijk gebleken om specifieke structurele en functionele verschillen in het brein te verbinden met seksueel dimorfe gedragsverschillen. Zo is er bijvoorbeeld aangetoond dat het toedienen van oestrogenen aan gecastreerde vrouwtjes enkele uren later al verhoogde dendritische verbindingen en synaptische schakelingen te zien geeft in de ventromediale hypothalamus kern (VMN) en de expressie van progesteron- en oxytocine-receptoren induceert.

Na het toedienen van progesteron en oxytocine neemt een vrouwtje de lordosis (een holle rug om te laten zien dat ze paarbereid is) houding aan in aanwezigheid van een mannetje.

De mannelijke VMN laat geen veranderingen zien na dezelfde hormonale behandeling en mannetjes gaan niet in lordosis voor een ander mannetje na een vrouwelijk hormoonregime. Gebaseerd op deze en andere experimenten wordt verondersteld dat de genderspecifieke hormonaal geïnduceerde structurele veranderingen in de VMN ten grondslag liggen aan de expressie van lordosis door vrouwtjes in de buurt van een mannetje. Dus, als er een goed gedefinieerde gedragseenheid zoals lordosis samenhangt met duidelijk identificeerbare dimorfe hersenstructuren is het mogelijk om hersen-gedrag relaties vast te stellen (Kelly et al.).

Meestal zijn de relaties tussen hersenen en gedrag echter niet zo precies gedefinieerd. Het is bijvoorbeeld bij mensen zo, dat mannen een grotere asymmetrie in de beide hersenhelften, grotere dimorfe gebieden in hun hypothalamus en een anders gevormd corpus callosum hebben dan vrouwen. (Kelly et al.) Tevens hebben mannen een grotere lateralisatie (scheiding in hersenhelften) Van de groep mensen die links temporaal een herseninfarct krijgt, is het percentage met blijvende spraakstoornissen bij mannen veel hoger dan bij vrouwen. De taalfunctie ligt bij vrouwen veel minder in één hersendeel gelokaliseerd dan bij mannen, met als gevolg dat na een infarct de hersenen flexibeler zijn (Dick Swaab in ref 12).

Verschillen in hersenstructuren hoeven overigens niet per definitie te duiden op verschil in gedrag. Beide seksen laten bijvoorbeeld een stress-geïnduceerde pijnstilling zien, maar farmacologische studies laten zien dat er verschillende neurochemische mechanismen zijn bij mannetjes en vrouwtjes. Het is soms echter moeilijk om sekseverschillen aan te wijzen omdat de methodes om gedrag te meten niet erg gevoelig zijn.

## **4.2 Invloed van geslachtshormonen op complex gedrag**

Het onderzoeken van sekseverschillen in hersen-gedrag relaties binnen complexe gedrags uitingen stellen ons voor speciale problemen omdat gedrag door zoveel verschillende invloeden gestuurd wordt, zoals sensorische processen, activiteit, aandacht, stress respons enz., die allemaal beïnvloed worden door geslachts hormonen.

Vrouwtjes ratten laten bijvoorbeeld een verhoogde staat van activiteit en gevoeligheid zien vlak voor hun oestrus periode.

### **Tegenstrijdige resultaten**

Zo zijn er in angst-experimenten nogal eens tegenstrijdige resultaten gevonden door het gebruik van verschillende diersmodellen. Zijn de resultaten dan toe te schrijven aan verschillen in angst, aan sekse verschillen of aan angst niveau verschillen binnen het dier zelf? Volgens Steenbergen et al. (Kelly et al.) geven bepaalde testen, waaronder het exploreren van een nieuwe omgeving of het vermijden van bepaalde aspecten in die omgeving ook verschillende, soms tegenstrijdige resultaten die het gevolg zijn van algemene verschillen in activiteit. Zo zijn vrouwelijke knaagdieren minder angstig in de open-field test, de elevated plus-maze test en de sociale interactie test, terwijl andere testen een hoger angstniveau aangeven of sekseverschillen die afhankelijk zijn van verschillende stadia in de oestrus cyclus.

Mannetjes worden meer beïnvloed door eerdere ervaringen dan vrouwtjes. Er is veel discussie over het feit of de gevonden sekseverschillen een relatie hebben met angst dan wel activiteit of algemene respons verschillen. Het is duidelijk dat complex gedrag eerst goed geanalyseerd moet worden voor hersen-gedrag relaties bepaald kunnen worden.

### **Challenge test**

Een van de methodes om de relatie tussen geslachtsverschillen in de hersenen en complex gedrag aan te kunnen tonen is de challenge (provocatie) test. Voorbeelden van challenge testen zijn het toedienen van farmacologische stoffen, verstoringen van de homeostase, fysiek trauma (pijn) of het gecontroleerd blootstellen aan stressoren. Het meten van receptorgevoeligheid, respons op drugs, veranderingen in bepaald gedrag laten vaak sekseverschillen zien die in de aanvangswaarden niet te zien waren.

Proefdierstudies hebben bijvoorbeeld sekseverschillen in gevoeligheid aangetoond voor verschillende angstreducerende stoffen zoals benzodiazepine, (bijv. diazepam), serotonine (5-HT) en ethanol, hoewel de richting van deze sekseverschillen nog niet consistent is. Veranderende cyclusstadia of het toedienen van geslachtshormonen hebben zowel bij dieren als bij mensen ook invloed op responsgevoeligheid op anxiolytica (angstremmers). Deze bevindingen suggereren een actieve controle over de gevoeligheid voor deze stoffen.

Provocatie experimenten brengen weer zo hun eigen problematiek met zich mee. Er moet rekening worden gehouden met een sekseverschil in zowel de gevoeligheid vóór als de respons óp de provocatie stimulus. Zo moet men bij het gebruik van farmacologische provocaties in genderexperimenten rekening houden met een andere farmacokinetiek (metabolisme en distributie), met de samenstelling van de subsystemen waarop de toegediende stof werkt (bijv. de dichtheid van neurotransmitter receptoren) en met de neurale output die de respons regelt. Experimenten hebben tot nu toe aangegeven dat geslachtshormonen invloed hebben op de gevoeligheid van verschillende onderdelen. Zelfs verschillende met elkaar geïntegreerde gedrags units kunnen door geslachtsverschillen elkaar anders beïnvloeden (Kelly et al.).

## Ontwikkeling in de jeugd bepaalt volwassen respons

De respons van het volwassen individu op steroïde hormonen is vooral afhankelijk van de seks-specifieke ontwikkeling van het jeugdige brein.

Sekseverschillen in de expressie van oestrogeen, progesteron en androgenen receptoren in verschillende hersengebieden kunnen de oorzaak zijn van een gender-afhankelijke manier van gedragsreacties op deze steroïden

Natuurlijk kunnen de meeste verschillen verklaard worden in het licht van de reproductieve functie. Het best bekend is de dimorfe respons van progestogene receptoren op oestrogenen.

Hoewel oestrogenen, progestogenen en androgenen verschillende veranderingen op cel niveau teweeg brengen is het vaak moeilijk om bijbehorende gedragsveranderingen te detecteren. Bij knaagdieren is de hormonale cyclus veel betrouwbaarder dan bij mensen. De intra- en interindividuele verschillen zijn in de menselijke menstruatie cyclus te groot. De meetmethoden van hormoonniveau en gedrag zijn daarvoor nog niet specifiek genoeg. De te meten gedragsuitingen komen in beide geslachten voor en het gaat dus vooral om kwantitatieve verschillen. Het zijn dus vooral statistische (on)mogelijkheden die beperkend zijn in het aantoonbaar maken van hormonaal gestuurde geslachts dimorfie in gedrag.

## Voortplantingsgedrag best bestudeerd

Het meest bestudeerde gedrag en het duidelijkste aantoonbaar is natuurlijk reproductie-gericht gedrag. Andere voorbeelden van gedrag dat onderhevig is aan hormonale schommelingen zijn activiteit en ruimtelijke oriëntatie, ongeacht de sekse. Ook bij mensen is de ruimtelijke oriëntatie beter bij lage oestrogeen niveaus en verslechtert als het oestrogeen-niveau stijgt.

Hoewel het dus nog erg moeilijk is om kwantitatieve gender verschillen aan te tonen moet er bij gevonden experimentele verschillen altijd rekening gehouden worden met verstoringen in de cyclus. Relatief complexe en potentieel versturende invloeden die verloren gaan in de baseline respons kunnen wel tot uiting komen in bijvoorbeeld leer- en geheugen-situaties of bij ziekte.

Concluderend: De complexiteit van de hormonale interacties en de gebrekkige meetmethoden kunnen de oorzaak zijn van de grote tegenstrijdigheden in de literatuur. Tenslotte, schommelingen in de reproductieve cyclus worden veroorzaakt door genetische en niet-genetische invloeden van steroïde hormonen en kunnen ook afhankelijk zijn van andere hormonen (Kelly et al).

## Niet-genetische invloeden van steroïde hormonen

Er komen steeds meer nieuwe inzichten in verschillende werkingsmechanismen van steroïde hormonen. Naast de klassieke opvatting van de intracellulaire steroïd-receptor veranderingen in transcriptie zijn er ook snelle membraangebonden interacties (binnen enkele seconden).

De onlangs gevonden membraan gebonden oestrogeen-receptoren laten zien dat er ook niet genetische mechanismen zijn om cellulaire functies te moduleren. De gedrags consequenties van deze snelle hormonale acties zijn nog niet erg duidelijk, maar het lijkt erop dat er een invloed is op beweging en coördinatie. Het feit dat oestrogenen de gedragseffecten van dopamine antagonisten kunnen verhogen komt door deze niet-genetische mechanismen op dopaminerge neuronen. Ook electrofysiologische studies hebben deze snelle respons op verschillende neurotransmitter systemen aangetoond. Deze effecten variëren van afgifte van neurotransmitters tot post-synaptische modificaties. Het toedienen van oestrogenen geeft onmiddellijk een verhoging van glutamaat-effecten in verschillende hersengebieden, serotonerge respons in de hippocampus, dopamine respons in het nigrostriatum systeem, opioïde en GABAB respons in de hypothalamus. Oestrogenen kunnen ook de gentranscriptie beïnvloeden via second messenger systemen en ook allerlei andere celprocessen.

Steroïde derivaten van progesteron, testosteron en glucocorticoïden, die meestal neurosteroïden genoemd worden, kunnen ook niet-genetische invloed hebben op gedragsresponsen en hebben zo hun eigen bijdrage aan sex-gerelateerde verschillen. De gedragsveranderingen van deze neuro-actieve steroïden staan vooral in verband met angstvermindering / pijnstilling / afname van insultfrequentie (vooral bij vrouwen) en zijn vergelijkbaar met de werking van benzodiazepinen, alcohol en barbituraten.

De verhoogde niveaus van deze stoffen na acute stress suggereert een rol voor deze endocriene respons in het neurale stress respons systeem. Deze gedrags responsen gaan waarschijnlijk via GABA en glutamaat ion-kanalen met snelle directe acties en niet via de klassieke (genetische) steroïdereceptor mechanismen. Belangrijk zijn ook de hoge progesteron niveaus in de zwangerschap die fysiologisch relevante steroïd niveaus in de hersenen verhogen.

Neuroactieve steroïden laten basale genderverschillen zien en verschillen in hormonale responsen. Vrouwen hebben over het algemeen hogere basale niveaus dan mannen en die steroïde niveaus verschillen ook nogal eens gedurende de verschillende reproductieve stadia, hoewel overall niveaus na stress geen grote verschillen tussen mannen en vrouwen laten zien. De rol van oestrogenen (oestrogeenbehandelingen) in genderverschillen is erg groot, want ze verhogen de effectiviteit van neurosteroïden en de bijbehorende gedragsresponsen. (Zie voor uitgebreide review Kelly et al 1999).

## 5 Gendersverschillen in gevoeligheid

### 5.1 Toxicologische aspecten

Seksegerelateerde verschillen in toxische effecten van xenobiotische stoffen zijn door Calabrese (1984) beschreven in zijn boek “Toxic susceptibility: male/female differences”. Omdat het woord “toxisch” een moeilijk definieerbaar begrip is, zijn de beschrijvingen over de hoeveelheid toxische stoffen en hun verschillen in effect op de geslachten bij verschillende auteurs nogal uiteenlopend, maar over het algemeen zijn vrouwtjesratten gevoeliger voor toxische stoffen dan mannetjes. Als de gevoeligheid van mannetjes op 1 gesteld wordt dan is de ratio voor 149 stoffen in vrouwtjes (ratten)  $0.88 \pm 0.036$  en bij muizen  $0.92 \pm 0.058$  (Krasovskij 1975 in ref.3).

#### Het geslacht van levercellen

“Een levercel is een levercel” is een uitdrukking die nog gebezigd wordt door toxicologen. *In vitro* onderzoek aan losse levercellen die ontkoppeld zijn van de hersenen zijn kennelijk voor deze wetenschappers niet meer mannelijk of vrouwelijk.

“Overtollige” vrouwtjes dieren worden veel gebruikt voor *in vitro* onderzoek (zie hoofdstuk proefdieren), niet omdat het vrouwtjes zijn, maar omdat het overtollig weefsel materiaal is.

Deze verschillen lijken gemiddeld genomen wel gering, maar voor sommige stoffen is de acute toxiciteit toch wel erg sekse afhankelijk. Ook in toxicologische aangrijpingspunten zijn de geslachten verschillend. Voor niertoxiciteit is de mannelijke rat veel gevoeliger. Vrouwtjes zijn juist gevoeliger voor leverintoxicatie.

Waar deze geslachtsafhankelijke verschillen in toxische gevoeligheid op gebaseerd zijn is nog niet duidelijk. De mechanismen die hier een rol spelen zijn klaarblijkelijk sekse-specifiek. Voor sommige stoffen is aangetoond dat het een orgaanspecifiek sekseafhankelijk metabolisme betreft.

### Cytochroom P-450

Enzymen, die betrokken zijn bij ontgiftingsreacties, zijn niet allemaal hetzelfde in mannetjes en vrouwtjes. Cytochroom P-450 is een familie van enzymen bestaande uit 11-14 verschillende isozymen die allemaal een verschillend, soms overlappend deel van het substraat metaboliseren. Één vrouwspecifieke en drie manspecifieke vormen zijn geïdentificeerd door elektroforetische analyse (Schenkman et al 1987 in ref 3).

Sommige stoffen beïnvloeden het sekseverschil in levermetabolisme. Een meermalige (gedurende 4 dagen) toediening van morfine veroorzaakt bij mannetjes een veel lagere enzymactiviteit. Bij vrouwtjes is er geen effect. Deze geslachtsafhankelijke invloed op enzymactiviteit is volledig afhankelijk van een intacte hypofyse activiteit (Finnen and Hassall 1984 in ref 3). De afbraak van fenolen is bij mannetjes sterker dan bij vrouwtjes behalve bij de steroïdfenolen. Ook in de activiteit van conjugatie enzymen zijn er (grote maar niet altijd consistente) geslachtsverschillen gevonden.

## 5.2 Farmacologische aspecten

Verschillen in metabolisme en eigenschappen van stoffen (milieu-invloeden of medicamenten) dragen bij aan geslachtsverschillen in farmacologische en toxicologische respons. Kwantitatieve verschillen beïnvloeden zowel de intensiteit als de duur van de werking van een stof. Als er intrinsieke metabole verschillen zijn tussen de beide geslachten is er ook een kwalitatief verschil in de werking van de stof.

Naast verschillen in farmacokinetische parameters kunnen er ook verschillen zijn in farmacodynamische gevoeligheid. Dit wordt veroorzaakt door een seksuele dimorfie in morfologische structuur en in fysiologische en biochemische werking van weefsels en cellen. Farmacokinetische (snelheid) en farmacodynamische (metabole) oorzaken van geslachtsverschillen in de respons op chemische stoffen zijn niet altijd precies gedefinieerd.

Geslachtsverschillen in het hart-vaat-systeem zijn herhaaldelijk onderzocht, m.n. vanwege de humane relevantie. De gemiddelde bloeddruk verschilt niet tussen de beide geslachten, zowel onder narcose als bij bewustzijn. De hartslag is bij vrouwtjes ratten sneller dan bij mannetjes.

Vaatreacties op verschillende stoffen (anesthetische stoffen zijn veel onderzocht) zijn weinig van elkaar verschillend of inconsistent.

Sekse gerelateerde verschillen in drugmetabolisme in de rat is in meerdere *in vivo* en *in vitro* studies aangetoond (review Kato 1974 in ref 3). De mono oxygenase activiteit in de lever, (in *in vitro* gemeten aan de omzetting-activiteit voor verschillende substraten in lever microsomen van de jonge rat) is bij mannetjes vele malen groter dan bij vrouwtjes (Fujita et al 1985 in ref 3). Er zijn grote verschillen, ook tussen onderzoekers en soms zelfs in hetzelfde laboratorium, afhankelijk van de gebruikte methode of concentratie van het substraat.

Het verschil in sex-ratio kan ook gevormd worden omdat een substraat wordt gemetaboliseerd langs verschillende wegen.

### Leeftijdsafhankelijk sekseverschil in medicijnmetabolisme bij de rat

Het sekse verschil in drug metabolisme is sterk leeftijd-afhankelijk. Lever microsomen van pasgeboren dieren zijn nog niet in staat om medicamenten te metaboliseren. De metabole activiteit neemt de eerste 4 weken voor mannetjes en vrouwtjes gelijk toe (Conney 67 in ref. 3). Tussen dag 30 en dag 50 neemt het sekse verschil toe en blijft stabiel gedurende het volwassen leven. Dit groeiende verschil is hoofdzakelijk toe te schrijven aan het toenemen van de enzymactiviteit bij mannetjes. De enzymactiviteit van vrouwtjes blijft gelijk of neemt zelfs iets af. Bij het ouder worden (na 24 maanden) neemt de enzymactiviteit bij mannetjes weer af tot hetzelfde niveau van de vrouwtjes (Kitagawa et al 1985 in ref.3).

Het sekse verschil in levermetabolisme is afhankelijk van de hoeveelheid circulerende androgenen. Dit effect van androgenen zit niet op leverniveau. Het is een indirect effect van veranderingen in de hypofyse onder invloed van groeihormonen. Bij mannetjes is de uitstoot van groeihormonen meer episodisch en bij vrouwtjes veel gelijkmatiger.

### Complicerende factoren

Tot nu toe zijn de meest duidelijke verschillen gevonden in *in vitro* studies omdat *in vivo* studies gecompliceerd worden door andere invloeden. Soms heffen verschillen in kinetische parameters elkaar op. Zo kan de bindingscapaciteit en de halfwaardetijd voor de beide geslachten omgekeerd evenredig zijn zodat het uiteindelijke proces resulteert in een gelijke respons op bepaalde stoffen.

Omdat de bespreking van deze metabole mechanismen erg complex is, is het in deze context voldoende om aan te geven dat er ook in de lever voldoende geslachtsverschillen te vinden zijn om

seksegerelateerd onderzoek te rechtvaardigen om bijvoorbeeld gerezen vraagtekens in drug-medicatie studies op te helderen.

## **Humaan onderzoek**

Hoewel seksedimorfie in fundamenteel onderzoek geen hoge prioriteit heeft worden er af en toe wel case studies gepubliceerd.

Het is niet meer te ontkennen dat er meer verschillen tussen de geslachten zijn dan de cyclusaafhankelijke. De vraag blijft in hoeverre deze verschillen relevant zijn voor de humane geneeskunde omdat de individuele variatie ook een grote rol speelt. Bij humane anesthesie bijvoorbeeld is de variatie die veroorzaakt wordt door leeftijd, gewicht en toestand van de vitale functies (hart-longen) veel belangrijker. Ook het voorschrijfgedrag van (huis)artsen wat betreft doseringen is gebaseerd op andere parameters dan geslacht. Blijft het probleem van niet- of anders reagerende patiënten en het feit dat artsen niet alert zijn op geslachtsverschillen.

Bij retrospectief onderzoek, zoals dat nogal eens in de medische literatuur voorkomt,

bestaat per definitie een selectiebias omdat er gekeken wordt naar een populatie, die zich om de een of andere reden juist in die samenstelling heeft aangediend.

Dat onderwaardering van mogelijke bias in de geslachtsverhouding tot twijfelachtige conclusies kan leiden moge blijken uit het volgende voorbeeld.

## **Verdoezeling sekseverschil bij pijnpatiënten**

Op een polikliniek voor pijnbestrijding wordt vastgesteld, dat 90% van de patiënten bestaat uit vrouwen. Onder de populatie van de pijnpoli werd onderzoek verricht naar de effectiviteit van een nieuwe therapie. Bij de eindconclusie is het verschil in aantallen vrouwen en mannen echter verdwenen en wordt de indruk gewekt, dat er uitspraken worden gedaan over een aselechte patiëntenpopulatie.

In dit geval zijn de mannelijke patiënten in het onderzoek geïncludeerd om tot een wat meer comfortabele steekproefpopulatie te komen. Het had meer voor de hand gelegen om de onderzoeksvraag hier op de eerste plaats te betrekken op het probleem van het grote aantal vrouwen, dat pijnbestrijding zoekt op de pijnpoli. Vergelijking tussen mannelijke en vrouwelijke patiënten was in dit voorbeeld niet aantrekkelijk omdat de groepen in grootte te veel verschilden. (A.Moesker 11)

Interpretatie van retrospectief verkregen data moet dan ook met de grootst mogelijke terughoudendheid geschieden om ongewenste vertekening en dwaling te voorkomen.

## **Farmacogenetica**

Belangrijke invloeden op individuele variatie zijn vooral leeftijd, maar ook gewicht en voedingstoestand. Dit is waarschijnlijk een belangrijke reden dat de farmaceutische industrie in Nederland (nog) niet geïnteresseerd is in specifieke medicijnen/doseringen voor vrouwen. Hierin komt wel enige kentering naarmate er meer bekend wordt over de farmacogenetica met de groei van kennis over het menselijk genoom. Met die kennis neemt ook het inzicht in interindividuele genetische verschillen toe, inclusief verschillen die van belang zijn voor effecten van geneesmiddelen. Op 31 aug. 2000 is er een rapport van de Gezondheidsraad uitgekomen getiteld "Farmacogenetica" (2).

Er blijkt steeds meer belangstelling voor de schade die het gebruik van geneesmiddelen met zich meebrengt. Bij ongeveer 6.7% van de in ziekenhuizen opgenomen patiënten in de V.S. komen ernstige incidenten voor die samenhangen met geneesmiddelengebruik. Verschillen in erfelijke aanleg leiden tot aanzienlijke variatie in de snelheid waarmee bepaalde medicijnen in het lichaam worden afgebroken. Een sneller metabolisme geeft een verminderde werking. Bij een langzamere afbraak is er



een verhoogde kans op bijwerkingen. Er blijken grote genetische variaties te bestaan tussen de verschillende rassen. De frequentie van het voorkomen of juist missen van een alleel dat codeert voor een bepaald enzym, verschilt van bijvoorbeeld 16% bij blanken tot 49% bij Aziaten.

Vreemd genoeg wordt er in dit hele rapport niets vermeld over man-vrouw verschillen op één voorbeeld na. De hemolytische anemie die als bijwerking optreedt bij een bepaald antimalariamiddel komt bij 10% van de mannen voor en slechts bij 1% van de vrouwen.

Ook in de aanmaak van serotonine-transport-eiwitten zit een grote genetische variatie. Aangezien er bij veel aandoeningen die bij vrouwen meer voorkomen dan bij mannen altijd serotonine betrokken is (pijn, depressieve aandoeningen, eetstoornissen) zou het goed zijn als er bij onderzoek naar 5HT receptoren meer aandacht aan het geslacht gegeven zou worden.

## Gender en medicijnen: maatschappelijke ontwikkelingen

Aan de Columbia Universiteit New York is een groep wetenschappers die zich verenigd hebben in een gender/medicin gericht gezelschap: "Partnership for Women's Health" (13) Het is een samenwerkingsverband tussen een academisch medisch centrum en de particuliere sector om tot genderspecifieke medicatie te komen. Hun doel ligt zowel in het onderzoek als in het onderwijs. Deze groep ondersteunt wetenschappers die zich bezighouden met gender gericht onderzoek.

Het Partnership behelst de volgende onderzoeksgebieden : Anesthesiologie-paradontologie-dermatologie-endocrinologie-voeding-verloskunde en gynaecologie-oncologie-chirurgie-psychologie en psychiatrie.

Er is zelfs sinds 1998 een tijdschrift in deze onderzoeksfeer: JGSM The Journal of Gender-Specific Medicine (7). Hierin worden boek recensies, review artikelen, case studies en aankondigingen van conferenties gepubliceerd.

Bovenstaande blijft beperkt tot epidemiologisch onderzoek. Fundamenteel onderzoek blijft kampen met ethische problemen wat betreft de reproductieve fase van vrouwen. Het is ethisch niet mogelijk om vrouwen en hun nageslacht te onderwerpen aan invasief onderzoek. Dat is de belangrijkste reden dat vrouwen in deze fase van hun leven uitgesloten zijn van fase III onderzoek (klinische testen van nieuwe medicijnen). De consequentie van deze opstelling is, dat eventuele genderverschillen in respons pas in fase IV, via terugmelding van bijwerkingen kunnen worden gesignaleerd. Men kan zich afvragen, hoe ethisch dat dan is. (Zie ook proefschrift Nicolien Wieringa ref.18)

Hoewel er in de officiële regels (zie kader Pharma Bio Research) niets vermeld staat over het geslacht van de vrijwilligers/proefpersonen worden in de praktijk vrouwen in de reproductieve leeftijd (bijna) altijd uitgesloten van de experimentele fases van onderzoek. Ook in advertenties voor vrijwilligers (of internetsites waar proefpersonen gezocht worden voor clinical trials) worden personen M/V gevraagd. Uiteindelijk vallen vrouwen tussen 18 en 50 jaar in de leeftijds

### Policy Changes: The 1993 FDA Gender Guideline

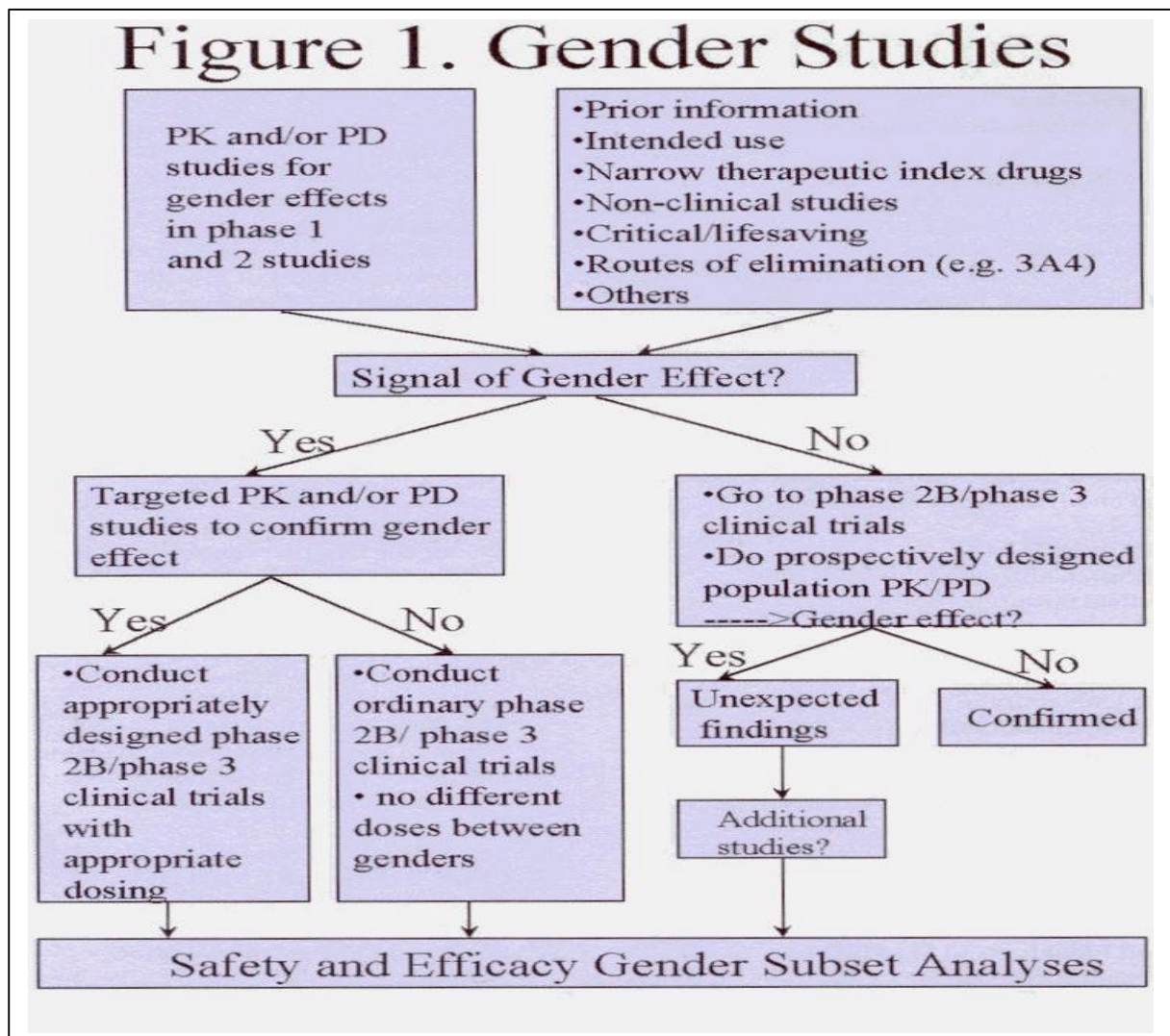
In 1993, FDA explicitly reversed the 1977 recommendation that women with childbearing potential be excluded from early clinical studies when it published "Guideline for the Study and Evaluation of Gender Differences in the Clinical Evaluation of Drugs." The new guideline also called for data to be analyzed to assess gender effect. Issues surrounding implementation of this guideline represented an important element of workshop deliberations.

The new guideline is best understood as part of a continuing effort to enhance individualized pharmaceutical therapy. This is based on the growing recognition that pharmaceuticals may need to be administered differently in different population groups identified by one or more demographic or clinical characteristics, such as gender, ethnicity, age, body size, hepatic or renal function, disease state or enzyme activity. Several important FDA documents reflect the early recognition of the value of individualized therapy: <http://www.fda.gov/womens/gender/Exec4.htm>

exclusie-criteria die opgesteld worden door de betreffende farmaceutische fabriek. Door PBR wordt gemeld dat de verhouding man/vrouw ongeveer 8/1 is.

In de V.S. (en ook in Europa) worden de regels voor humaan onderzoek opgesteld door de FDA Food and Drug Administration. In Nederland worden deze regels ook hoofdzakelijk gevolgd, maar we lopen kennelijk wat achter in de praktische uitvoering, omdat deze aanpassing van de regels omtrent gebruik van vrouwen in de vruchtbare leeftijd in Nederland nog niet gevolgd wordt. (Jansen-Cilag, MSD)

In 1995 is er in de V.S. een richtsnoer ontwikkeld tijdens een Gender Workshop om meer helderheid te verschaffen in verder onderzoek naar gender verschillen. Omdat er een grote behoefte bestaat aan geschikte proefmodellen om de vraagstellingen in de “gender”biologie te beantwoorden, is er meer wetenschappelijke informatie en onderzoek nodig op alle gebieden van medicamenten ontwikkeling om de beste benadering te ontwikkelen. (zie bijlage 1 en 2)



Een waardevol aandachtsgebied is het in vitro onderzoek in humane weefsels om te kijken of dit een voorspellende waarde heeft voor een mogelijk gender effect. Zo ja, dan zou deze low-budget benadering gebruikt kunnen worden om de hoge kosten van clinical trials te drukken. Het verfijnen van basale methodologie in het onderzoek is de beste benadering van zinnig genderonderzoek. (FDA Guideline 1993) zie figuur 1.

## VAN REAGEERBUIS TOT APOTHEEK

PHARMA BIO RESEARCH

<http://www.pbr.nl/nl/apotheek/main.asp>

### De buis

Van de meeste nieuwe geneesmiddelen begint de ontwikkeling in het laboratorium. Daar worden nieuwe stoffen (moleculen) gesynthetiseerd waarvan men denkt dat ze een bepaalde geneeskrachtige werking zullen hebben. Om dat na te gaan worden ze eerst getest op weefsel en organen. In de meeste gevallen blijken theorieën over werkingsmechanismen van de stoffen onjuist of slechts gedeeltelijk te kloppen.

### Het proefdier

Leveren de tests in weefsels en organen wel iets op, dan wordt de stof toegediend aan tenminste twee diersoorten om meer gegevens te verkrijgen over de werkzaamheid en de giftigheid ervan. Deze gegevens worden vertaald naar de mens om na te gaan of verdere ontwikkeling zin heeft.

### De mens

Een geneesmiddel wordt pas in de mens getest als uit dierproeven is gebleken dat de toxiciteit van het middel een objectief aanvaardbaar niveau niet overschrijdt. Er wordt begonnen met het toedienen van 1/100<sup>ste</sup> deel van wat in dieren nog veilig is gebleken. De tests moeten voldoen aan zeer strenge wetenschappelijke en medisch-ethische richtlijnen van de overheid.

**Fase I onderzoek:** Het geneesmiddel wordt getest in gezonde volwassen mannen en vrouwen, jong en oud. Men kijkt naar de opname en verdeling in het lichaam van de verschillende doseringen en toedieningsvormen, welke veranderingen het ondergaat en hoe de uitscheiding verloopt. Het functioneren van o.a. hart, longen, lever en nieren wordt nauwkeurig geregistreerd, evenals de bijwerkingen. Bij deze onderzoeksfase is een kleine groep vrijwilligers betrokken (±50-100).

**Fase II onderzoek:** Het middel wordt getest op ongeveer 250 patiënten die lijden aan de ziekte waarvoor het nieuwe medicijn is bedoeld. Nu wordt vooral gelet op de werkzaamheid en zoekt men de ideale dosis. Dit onderzoek vindt meestal plaats in samenwerking met medisch specialisten (en hun patiënten) van academische ziekenhuizen.

**Fase III onderzoek:** De effectiviteit, de verdraagbaarheid en veiligheid van het nieuwe middel wordt langdurig op patiënten getest (±2.500). Men vergelijkt het met reeds bestaande middelen en onderzoekt ook eventuele wisselwerkingen met andere veelgebruikte middelen. In deze fase wordt ook de optimale en definitieve doseervorm bepaald en wordt gekeken of het daadwerkelijk geschikt is voor registratie op de markt.

Het dossier van alle onderzoeken wordt ter beoordeling aangeboden aan de bevoegde overheidsinstantie. In Nederland is dat Het College ter Beoordeling van Geneesmiddelen. Daarna wordt het geneesmiddel "geregistreerd".

**Fase IV** Ook als een geneesmiddel eenmaal is geregistreerd en op grote schaal (25.000) door patiënten wordt gebruikt, gaat het onderzoek naar de werkzaamheid en veiligheid door. De gegevens van tienduizenden patiënten worden verzameld via artsen die het medicijn regelmatig voorschrijven. Er wordt gekeken hoe het staat met de veiligheid van het geneesmiddel op de lange termijn, wanneer het wordt toegediend volgens de voorschriften op de bijsluiter.

### 5.3 Milieuaspecten

De oorspronkelijke vraag die ten grondslag ligt aan dit project werd gesteld door een vrouwenorganisatie, die vooral actief is op milieugebied. Er zijn epidemiologische gender-verschillen en er is een discrepantie tussen onderzoek en doelgroep. Gangbaar is een generalisatie van gevonden resultaten bij een beperkte groep; en niet alleen wat betreft sekse, maar ook wat betreft leeftijd en ras. Ook zijn er de nodige voorbeelden van verstoorde seksuele ontwikkeling bij aan vervuiling blootgestelde dierpopulaties.

#### **Vermannelijking wulk door tinhoudende scheepsverven**

Dr Cato ten Haller-Tjabbes houdt zich bezig met toxicologische problemen in de zee in samenwerking met het NIOZ –Nederlands Instituut voor Onderzoek der Zee- in Texel. Zij is als bioloog gepromoveerd op de wulk (zeeslak). In 1999 vond zij in de Noordzee vrouwelijke wulken met een penis. In grote delen van de Noordzee en de Waddenzee kwamen helemaal geen wulken meer voor. Ze vond veel lege schelpen en vrouwelijke dieren met misvormde penissen.

Het giftige TBT–tributyltin (een anti-alggroei middel in scheepsv verf) was al eerder onderkend als de veroorzaker van hormonale verstoringen en van vermannelijking van vrouwtjesslakken (imposex) langs de kust van Engeland. Ook de Franse oestervissers troffen misvormde exemplaren in hun oesterbedden. Cato ten Hallers vond tijdens haar onderzoek in 1991 een overlap tussen de gebieden waar imposex voorkwam en de grote scheepvaartroutes. In 1996 deed zij samen met Aziatische onderzoekers dezelfde bevindingen in Zuid-oost Azië, waar op drukke scheepvaart locaties veel slakken met imposex voorkomen.

Een andere reden voor het verdwijnen van de wulk is de aantasting van hun reukorgaan door vervuilende stoffen. Hun reukorgaan is op grote diepte noodzakelijk voor het vinden van voedsel en een partner. Bovendien ruiken wulkvrouwtjes door de hormonale verstoring misschien naar “man” hetgeen een goede partnervereniging ook in de weg staat.

Vanaf 2003 is de toepassing van TBT in scheepsv verf verboden (na een lange strijd vanwege de commerciële belangen). Het gif zal echter nog lang aanwezig blijven in havenslib (5).

Ook bij het onderzoek naar milieu en arbeidsomstandigheden bestaan gender-gerelateerde verschillen, die echter niet in alle gevallen ten nadele van vrouwen zijn. Soms zijn mannen de onderbelichte groep.

Zo blijkt uit een studie naar chemische verontreiniging op het werk dat eigenlijk alleen vrouwen (in verband met hun nageslacht) onderwerp van onderzoek zijn (3). Er is veel bekend over DES dochters, maar weinig over DES zonen.

De laatste jaren blijkt echter dat steeds meer problemen met onvruchtbaarheid ook mannen en toekomstige vaders aangaan. Zo is de afnemende levensvatbaarheid van sperma een mondiaal probleem. Ook zijn de zaadcellen veel gevoeliger voor DNA schade veroorzaakt door chemische vervuiling, zodat de oorzaak van aangeboren afwijkingen niet meer alleen bij moeders en zwangerschappen gezocht wordt. Er wordt nu erg veel onderzoek gedaan naar de effecten van endocrien actieve stoffen (zoals pseudohormonen), maar een duidelijk gender perspectief, zoals bij sommige onderzoeksgroepen farmacie, ontbreekt vooralsnog.

Dat er allang bekend is dat er sekseverschillen zijn in respons op chemische stoffen blijkt uit de verschillende MAC waarden die gehanteerd worden in de chemische industrie. MAC: betekent: Maximaal Aanvaarde Concentratie

Voor ongeveer 700 veel gebruikte chemische stoffen heeft de overheid MAC-waarden vastgesteld (1978) [V.S.in 1933]. Ze geven aan bij welke concentratie van een stof in de lucht de gezondheid van mensen en hun nageslacht niet benadeeld wordt voor zover de huidige kennis reikt. Nederland vormt

een uitzondering op de meeste landen door in de definitie van de MAC uitdrukkelijk ook de gezondheid van het nageslacht op te nemen. Overigens kunnen de MAC waarden een vals veilig beeld geven vanwege de vele tekortkomingen.

Het feit dat er voor vrouwen andere MAC waarden worden gehanteerd stamt uit de tijd dat de vrouw (en haar ongeboren kind) nog beschermd werd (mocht worden). De vakbeweging en de vrouwenbeweging ijveren al jaren voor gelijke MAC waarden c.q. bedrijfsnormen voor vrouwen en mannen, met in hun hand de “Wet op Gelijke Behandeling”. Het bestaan van verschillende MAC-waarden leidt in bedrijven al te vaak tot discriminatie op grond van geslacht: niet de werkplek wordt gezonder gemaakt, maar vrouwen worden geweerd van de werkplek. Het leidt tot een kunstmatige belangentegenstelling; behoefte aan een veilige werkplek en recht op werk voor beide geslachten. De FNV pleit dan ook voor *gelijke bedrijfsnormen* die afgestemd moeten zijn op degene die het meest gevoelig is.

Het ziet er overigens naar uit, dat de kennisachterstand ten aanzien van genderverschillen voor milieuvervuiling zo mogelijk nog groter dan in de farmacologie. Aan beide ligt een gebrek aan fundamentele kennis ten grondslag, ten aanzien van milieuaspecten nog verergerd door gebrek aan epidemiologisch en toegepast genderspecifiek onderzoek.

## 6 Proefdierkeuze, economische en ethische aspecten

### 6.1 Regels voor ethisch gebruik van proefdieren

In het handboek Proefdieren en dierproeven (14) worden in Hoofdstuk 2 de wettelijke aspecten van dierproeven besproken. Er zijn GEEN wettelijke voorschriften wat betreft het geslacht van het proefdier. De keuze van het te gebruiken proefdier wordt bepaald door de behoefte om een statistisch zuiver vergelijkbaar resultaat te krijgen. Elk gebruik van proefdieren dient vooraf getoetst te worden door een ethische commissie, die erop toeziet, dat dieren niet onnodig lijden, en dat er niet nodeloos veel dieren worden gebruikt. Uitgangspunt is, dat het dier een intrinsieke waarde heeft, die gerespecteerd dient te worden. De onderzoekers hebben de wettelijke plicht een zorgvuldige afweging te maken tussen de belangen van het onderzoek (= het belang van de mens) en die van het dier. De ethische commissie toets, of dat inderdaad in voldoende mate is gebeurd.

Proefdieren worden voor uiteenlopende onderzoeken gebruikt. Er zijn dan ook verschillende aspecten die de keuze van het proefdier bepalen. Proefdieren worden in het algemeen gebruikt voor:

#### 1. Verkrijgen van biologische producten.

Bijvoorbeeld Pregnant Mare Serum (PMS), geslachtshormonen uit de urine van drachtige merries, ter behandeling van verminderde vruchtbaarheid en overgangsklachten. Ook voor de bereiding van vaccins wordt van dieren gebruik gemaakt.

#### 2. Het meten van fysiologische, pathofysiologische en ethologische parameters.

Het dier dient als meetinstrument. De reacties van het dier moeten extrapoleerbaar zijn naar een andere diersoort of naar de mens. Het dier als meetinstrument wordt gebruikt voor een veelheid van doeleinden, onder meer voor de (farmacologische en toxicologische)-screening van allerlei stoffen zoals geneesmiddelen, vaccins en industrieel toegepaste stoffen. Ook worden proefdieren gebruikt bij de microbiologische diagnostiek- en natuurlijk ook voor fundamenteel onderzoek.

Voor dit hoofdstuk zijn, naast schriftelijke bronnen, diverse onderzoekers geraadpleegd.

### 6.2 Geslachtskeuze proefdieren

De keuze voor het geslacht van het te gebruiken proefdier hangt samen met een aantal verschillende aspecten. Het meest opvallende verschil tussen de beide seksen is direct de meest voor de hand liggende reden voor het gebruik van mannetjes, de vrouwelijke hormonale cyclus.

### Cyclus

Bij een van de meest gebruikte proefdieren, de rat, is de 4-daagse cyclus (zie kader) de oorzaak van het gebruik van een vier maal zo grote groep proefdieren om statistisch relevante resultaten te bereiken. Dit weerhoudt de meeste onderzoekers ervan om in eerste instantie met vrouwen te gaan werken als het niet om reproductie of cyclusgerelateerd onderzoek gaat.

#### Gebruik van “overtollige” dieren

De meeste dieren die niet gebruikt worden voor dierexperimenten worden alsnog gebruikt (bloed en weefsel) voor *in vitro* experimenten. Schoon dierlijk afval wordt als diervoeder verstrekt aan dierentuinen en particulieren (10).

### Werkgemak

Ook het gemak van werken speelt een rol in de keuze van een bepaald geslacht.

Mannetjesratten zijn prettiger om mee te werken dan vrouwtjes en bij muizen zijn het juist weer de

vrouwtjes die makkelijker in groepsverband gehouden kunnen worden omdat mannetjesmuizen onder elkaar veel agressiever zijn. Soms zijn er hele banale redenen om wel met vrouwtjes te werken. Vrouwelijke proefdieren zijn vaak “overtollig” (!!) proefdiervormaat.

Soms is het experimenteel-technisch gezien beter om met vrouwen te werken. Hartfysiologisch onderzoek bij honden bijvoorbeeld wordt gedaan door de honden jasz met meetinstrumenten te laten dragen. De penis van reuen zit daarbij in de weg en uit hygiënische overwegingen worden dan liever teven gebruikt (Jansen-Cilag).

## Economische motieven

Uit economische overwegingen wordt er ook wel onderzoek gedaan met vrouwelijke dieren, zeker als het om “dure” dieren, zoals grote huisdieren, gaat. Gedragsfysiologisch onderzoek bijvoorbeeld wordt bij varkens ook wel gedaan met zeugen. (Proefschrift Ingrid de Jong Chronic stress parameters in pigs. september 2000) Het geslacht als zodanig (geslachts verschillen) speelt bij dit onderzoek echter geen rol. Dit onderzoek is gericht op dierenwelzijn in de landbouw en geen dierexperimenteel onderzoek zoals bedoeld in preklinisch onderzoek.

Een mogelijk belangrijke oorzaak van tegenstrijdige resultaten bij verdere vergelijkbaar onderzoek is de verwaarlozing van de invloed van het geslacht van het gebruikte proefdier. In

30% van de onderzoeken wordt niet eens vermeld van welk geslacht het gebruikte proefdier was.

### Oestrus-cyclus van de rat

De oestrus cyclus van de onder normale lichtcondities gehuisveste rat duurt meestal 4 dagen. De achtereenvolgende dagen worden oestrus-metoestrus-dioestrus- en pro-oestrus genoemd. Vaginale cytologie is een makkelijke en snelle methode om de fase van de oestrus cyclus van een dier te bepalen. De vaginale verhoorde epitheel cellen, die karakteristiek zijn voor de vaginale oestrus zijn ongeveer 8 uur vóór de ovulatie in het uitstrijkje is te zien (tussen 1 en 3 uur op de dag van de oestrus). Deze periode duurt ongeveer 36 uur. Hierna volgt een periode van 48 uur waarin de verhoorde epitheel cellen kwantitatief afnemen en het aantal leucocyten toeneemt (vaginale dioestrus). In de volgende fase van ongeveer 12 uur zijn veel epitheelcellen met kern te zien (vaginale pro-oestrus).

### Seksueel gedrag

De vrouwtjes rat laat vooral seksueel gedrag zien vlak voor de ovulatie in de periode waarin het vaginale uitstrijkje nog hoofdzakelijk pro-oestrus is. Dit gedrag blijft achterwege bij vaginale oestrus. Het karakteristieke kenmerk van vrouwelijke paarbereidheid is de lordosis houding en uitlokkend gedrag, zoals springen, heen-en-weer lopen en oortrillen. De lordosis-reflex –als ze door een mannetje beklommen wordt- is een immobiele houding met een holle rug en presentatie van het vaginale gebied met de staart opzij om het binnendringen van de penis mogelijk te maken.

## Fysiologische respons

Omdat vrouwelijke dieren vaak sensitiever zijn in fysiologische reacties, zeker bij herhaalde toediening van stoffen, worden er ook wel specifiek vrouwtjes gebruikt. Er worden bijvoorbeeld vrouwtjescavia’s gebruikt in actiepotentiaal onderzoek. Dit wordt echter alleen gedaan op voorspraak van de FDA (Food and Drug Organisation). Kennelijk geeft de vrouwelijke cavia de beste onderzoeksresultaten op dit gebied (Jansen-Cilag).

## Mannelijke en vrouwelijke modellen, wetenschappelijke continuïteit

Wetenschappelijke continuïteit en vergelijkbaarheid kan een reden zijn om steeds hetzelfde diermodel te kiezen. Resultaten moeten vergelijkbaar zijn met eerder onderzoek op hetzelfde terrein. Alle

condities moeten zoveel mogelijk constant gehouden worden, inclusief het geslacht van het gebruikte proefdier.

Van het standaard proefdier zijn bovendien alle fysiologische parameters goed bekend. Een onderzoeker van de onderzoeksgroep dierfysiologie verklaarde zelfs, dat een dier van het andere geslacht in vrijwel alle praktische opzichten een andere diersoort is (Anton Scheurink, pers.med., 2001).

Bij de onderzoeksgroep dierfysiologie van de Afdeling Biologie aan de RUG wordt veel onderzoek gedaan naar voedselgedrag al of niet in relatie met stress en voedingsstoornissen. In dit onderzoek wordt alleen met mannetjesratten gewerkt omdat voor het stress aspect een model gebruikt wordt (het social defeat model) waarin alleen met mannetjes gewerkt kan worden, omdat het bestudeerde gedrag in belangrijke mate specifiek is voor mannetjes.

In Haren (dierfysiologie) wordt wel met een vrouwtjesmodel gewerkt, het Activity Based Anorexia (ABA)-model. In jonge vrouwelijke ratten wordt door voedselrestrictie hyperactiviteit geïnduceerd, samen met gewichtsverlies en beëindiging van de oestruscyclus, symptomen van de ziekte Anorexia nervosa. Het ABA model blijkt dan ook geschikt te zijn om de symptomen, (maar niet de oorzaak!) van de ziekte te bestuderen (Anton Scheurink, pers. med. 2001).

In andere laboratoria, (o.a. biopsychiatrie in Groningen Academisch Ziekenhuis, Medische faculteit) wordt met een footshock apparaat een stress-reactie teweeggebracht zodat er ook met vrouwtjes geëxperimenteerd kan worden (Gert ter Horst, pers. med. 2001).

## **Farmeaceutische industrie**

Voor de farmaceutische industrie zou het van belang kunnen zijn om specifieke medicijnen en/of doseringen op de markt te brengen. Toch is er weinig of geen belangstelling voor dit aspect, hoewel hier wel verandering in komt in het kader van het humane-genoom-project. Vooralsnog is men van mening dat de verschillen tussen mannen en vrouwen wel naar boven komen gedurende het klinische onderzoek, vergelijkbaar met andere specifieke patiënten met lever- of nierinsufficiëntie. (o.a. MSD en Jansen-Cilag) Een andere veel voorkomende mening is ook dat de individuele verschillen groter zijn dan de verschillen tussen mannen en vrouwen. Met andere woorden, als er verschillen zijn tussen mannen en vrouwen zouden die wegvallen tegen de intra- en interindividuele verschillen die er sowieso zijn tussen mensen. (Zie ook discussie, hoofdstuk 7)

Met andere woorden: er wordt dus wel gebruik gemaakt van kennis over verschillen tussen mannen en vrouwen, maar nog lang niet genoeg. Er zijn teveel gevallen waarin wel degelijk kennis is over specifieke vrouwelijke aspecten van fysiologische mechanismen en/of aandoeningen terwijl er “voor het gemak” toch te weinig aandacht wordt besteed aan de keus van het geslacht van het te gebruiken proefdier.

## **6.3 De proefdierfokkerij**

In Nederland zijn geen cijfers boven water te krijgen over geslachtskeuze in het gebruik van proefdieren. In het jaarverslag van het CDL (Centraal Dieren Laboratorium) wordt het geslacht van het gebruikte proefdier niet vermeld. Ook in de DEC (Dier Experimenten Commissie) aanvragen wordt niet gesproken over het geslacht (en er wordt ook niet naar gevraagd!).

## **Biologisch overschot**

De proefdierfokkerij heeft te maken met twee oorzaken van overschot aan proefdieren. Ten eerste is er een “bedrijfsoverschot”, veroorzaakt door schommelingen in de vraag. De gevraagde dieren moeten altijd van dezelfde leeftijd en gewicht zijn en er zijn dips in de vraag in de vakantieperiode. Naast dit bedrijfsoverschot is er een “biologisch overschot” als gevolg van het verschil in vraag naar mannetjes en vrouwtjes.



In de aanvragen wordt er meestal geen reden voor de keuze van het geslacht gegeven. Alleen het aantal proefdieren moet verantwoord worden en alleen de gebruikte dieren tellen mee voor de proefdier registratie. De dieren die niet voor experimenten worden gebruikt, dus het bedrijfs- en het biologisch overschot worden niet vermeld.

In Engeland is er wel onderzoek gedaan naar de getallen van deze “niet-gebruikte” dieren, (naar aanleiding van parlementaire vragen vanuit de hoek van dierenbeschermingsorganisaties). Er blijkt een discrepantie in de geslachtskeuze te bestaan tussen de gebruikte proefdieren. Bij ratten worden meer mannetjes en bij muizen meer vrouwtjes gebruikt voor dier experimenten (zie onderstaande tabel ref.10). Dit verschil lijkt samen te hangen met het “gebruiksgemak” .

<b>MUIS</b>	<b>Dieren gebruikt voor experimenten</b>	<b>Bedrijfsoverschot</b>	<b>Biologisch overschot</b>
	35%	35%	30%
	65%	35%	
<b>RAT</b>	<b>Dieren gebruikt voor experimenten</b>	<b>Bedrijfsoverschot</b>	<b>Biologisch overschot</b>
	68%	32%	
	32%	32%	36%

Er is dus een aanzienlijk ‘biologisch overschot’ bij proefdieren. Wat er met deze dieren gebeurt speelt (nóg) geen rol in ethische afwegingen.

## 7 Tot slot

### 7.1 Discussie

Zoals we in het voorgaande gezien hebben, zijn er belangwekkende verschillen tussen mannelijke en vrouwelijke dieren. Er liggen ook nog veel onbeantwoorde vragen, die in principe met goed uitgevoerd experimenteel onderzoek te beantwoorden zijn. Hierbij moet rekening gehouden worden met een aantal methodologische problemen, die met een goede proefopzet te ondervangen zijn.

#### Methodologische problemen

- De vrouwelijke cyclus en de daarbijbehorende statistische problematiek. Bij ratten kost onderzoek met vrouwtjes vier keer zoveel dieren en op grond van ethische en economische afwegingen wordt het daarom nauwelijks gedaan.
- De ethisch niet verantwoorde deelname van vrouwen in de reproductieve leeftijd in humane experimentele onderzoeken. Met maandelijkse zwangerschapstesten wordt totale exclusie van reproductieve vrouwen voorkomen (MSD Caroline Doornebosch, arts)
- Het verschil in prospectief (c.q. experimenteel onderzoek of cohortstudies) of retrospectief onderzoek. Experimenteel onderzoek kan objectiever met goede controlegroepen opgezet worden. Bij retrospectief onderzoek ontbreken vaak (goede) controles en is er vrijwel altijd een grotere bias ten opzichte van de steekproefpersonen.
- Gevonden verschillen tussen mannen en vrouwen (c.q. en dieren) na experimentele behandeling gaan vaak voorbij aan reeds bestaande genderverschillen in uitgangswaarden.
- Maskering van genderverschillen. Afwezigheid van verschillen tussen de seksen kan het gevolg zijn van verschillende mechanismen of metabole routes, zodat genderverschillen toch nog verborgen blijven.
- De sensitiviteit en specificiteit van gedragsonderzoek zijn veel moeilijker (is het angst of activiteit?) dan duidelijke fysiologische parameters.
- De individuele variatie kan de variatie die door geslacht veroorzaakt wordt verborgen houden.

#### Centrum voor Gender Studies

Het Centrum voor Gender Studies (CGS) van de Rijksuniversiteit Groningen is een interfacultair platform voor onderzoek en onderwijs op het gebied van genderstudies. Medewerkers van verschillende faculteiten, waaronder Letteren, Theologie en Filosofie, werken samen in het CGS.

Is het ontbreken van enige â-wetenschap gebaseerd op de tegenstelling tussen á- en â- wetenschappen, of te wijten aan een algemeen gebrek aan belangstelling voor de

Bij de verschillende vormen van onderzoek die tot publicatie leiden zijn een aantal omstandigheden denkbaar, die op grond van geslachtsverschillen tot bias leiden. Wanneer er sprake was van een prospectief of experimenteel onderzoek kan exclusie van vrouwelijke of mannelijke proefdieren of proefpersonen leiden tot een onderzoekspopulatie, die slechts beperkte conclusies toestaat. Deze beperkingen worden lang niet altijd onderkend.

De redenen om te selecteren op geslacht kunnen variëren van *terechte selectie*, omdat de conclusies juist op die gedefinieerde subpopulatie betrekking hebben, maar ook kan een *feitelijke omissie* ten grondslag liggen aan de steekproefselectie. Zo wordt bij vervolgonderzoeken nogal eens gebruik gemaakt van steekproefpopulaties, die net zo zijn samengesteld als in eerdere onderzoeken, die ook al dubieuze selectiecriteria hanteerden.

In veel protocollen voor klinisch geneesmiddelenonderzoek worden potentieel reproductieve vrouwen uitgesloten op grond van risico-overwegingen.

Onder het aantal "hits" bij doorzoeken van Pubmed zijn nogal wat klinische publicaties, die "vrouwgericht" zijn. Om vast te stellen of dit terecht is, zou gekeken moeten worden naar de onderzoekspopulaties, waarop die studies betrekking hebben. Het is voorstelbaar, dat bij interpretatie van de data de mannelijke of vrouwelijke subgroep een ongewenste vertekening veroorzaakt. Negeren van de mannelijke groep leidt dan tot een maatschappelijk gewenst vrouwgericht resultaat, dat min of meer bij toeval ontstond en niet het gevolg was van specifieke aandacht voor de fysiologische man/vrouw verschillen. Uitvoeriger literatuuronderzoek kan hierover opheldering verschaffen.

## **Individuele variatie en genderverschillen**

Een belangrijk verschil in inzicht over de waarde die toegekend wordt aan individuele variatie en het verschil tussen de geslachten is een nadere discussie waard.

Gedragsverschillen (coping styles ) binnen een soort kunnen groter zijn dan de verschillen tussen de geslachten. Bijvoorbeeld de verschillen tussen Sallers en Lallers (agressieve en niet-agressieve muizen) zijn groter dan de verschillen tussen mannen en vrouwen. Deze stelling gaat voorbij aan het feit dat je daarmee een natuurlijke en belangrijke bron van variatie niet onderzoekt. Een analyse van bijv. een agressieve coping style binnen een geslacht vergelijken met de verschillen in agressie tussen mannen en vrouwen gaat voorbij aan de basale verschillen tussen de geslachten. Als er coping styles vergeleken moeten worden moeten er eerst voor beide geslachten coping style analyses gemaakt worden. En dat is nog niet gebeurd.

Want waarom worden er eigenlijk verschillende coping styles onderzocht? We gebruiken verschillen in gedragsuitingen om naar het fysiologisch substraat voor dit gedrag te zoeken. Als er verschillen in hersenstructuren gevonden worden en/of kwantitatieve verschillen in neurotransmittersystemen kunnen verbanden gelegd worden tussen gedrag en fysiologie. De hele biopsychiatrie is hierop gebaseerd. In het geval van genderverschillen zijn verschillen in fysiologisch substraat een gegeven. Het is dan wat kort door de bocht om genderverschillen als verwaarloosbaar ten opzichte van individuele verschillen in coping styles bij één geslacht te beschouwen.

Natuurlijk wordt het onderzoek aan vrouwtjes "gestoord" door de hormonale cyclus, een voor de statistiek lastige component. Maar ook de individuele variatie is een storende factor. Als er een genetische basis is voor de te onderzoeken verschillen hebben we te maken met allerlei vormen van heterozygoten, die zeker zo storend zijn voor de statistiek, maar tevens een bron van ontdekkingen aan genetische variatie. Ook de circadiane ritmiek is zo'n onderschatte stoorzender. Als de seksuele dimorfie uitgangspunt is van onderzoek is er in ieder geval het voordeel dat de variabele hormonale status bekend is of (in tijd) gematched of gereguleerd kan worden.

Onderzoek naar nieuwe diermodellen waarin vrouwen een substantieel onderdeel vormen kan daarom een nieuwe bron van ontdekkingen zijn.

## **Maatschappelijke taboes**

Niet alleen vrouwen, maar ook mannen hebben te lijden onder de maatschappelijke tendens om de biologische verschillen te benadrukken of te ontkennen. De stelling dat mannelijke en vrouwelijke karaktereigenschappen evolutionaire selectiecriteria zijn geeft niemand het recht om daarmee een status quo te verdedigen. Ieder organisme is immers uitgerust met de mogelijkheden om zich aan te passen aan veranderende omstandigheden.

Het is helaas niet te voorkomen dat de verkeerde mensen met de verkeerde gegevens verkeerde conclusies trekken. Als wetenschappelijk onderzoek geremd wordt om dit te voorkomen blijft er een taboe rusten op een enorme bron van kennis. Het is erg belangrijk dat beide seksen in dierexperimenteel en humaan onderzoek worden betrokken. Gender onderzoek draagt bij aan het begrip voor en over gender verschillen, ongeacht het wel of niet gewenst zijn van deze verschillen. Er moet geen waarde oordeel vast zitten aan gevonden verschillen. Dit houdt alleen maar het taboe voor

seksgebaseerd onderzoek in stand. Seksverschillen in hersenen en gedrag leren ons over de functie van mechanismen; het doel van de wetenschap.

## Fundamenteel onderzoek noodzakelijk

We leven momenteel in een tijd waarin er weinig waardering (en dus geld!!!) is voor fundamenteel wetenschappelijk onderzoek zonder economisch doel. Elk onderzoek moet direct en zichtbaar resultaat hebben. Patiëntenverenigingen krijgen steeds meer invloed. De geneeskunde wordt steeds defensiever bedreven uit angst voor (no cure no pay) advocaten. Patiënten zijn bang voor een vals negatieve diagnose en zijn bereid erg ver te gaan in allerlei onderzoeken en behandelingen om kost wat kost te voorkomen dat er iets over het hoofd gezien wordt. Het aantal vals positieve diagnoses wordt daardoor groter (maar minder bedreigend voor de arts in kwestie, want als je iets behandelt wat er niet is doe je het “goed”) De meeste patiënten willen ook liever een fysiologische “ziekte” dan een maatschappelijke (of psychische-“het zit tussen je oren”)

Al deze maatschappelijke invloeden veroorzaken een trend naar meer klinisch in plaats van préklinisch onderzoek. Maar klinisch onderzoek en overbehandeling kunnen ongerustheid, gebaseerd op gebrek aan kennis, niet wegnemen. Daarom wordt er van het biologisch fundamenteel onderzoek een meer maatschappelijk gerichte houding gevraagd.

Om vakblindheid te overwinnen en extreme conclusies te voorkomen zijn gedragsfysiologie en biopsychiatrie goede vakgebieden. De grenzen tussen fysiologische/neurologische aspecten en externe invloeden zijn vaag en behoeven meer aandacht. Het is het doel van deze wetenschap om antwoord te vinden op de vraag:

*"In hoeverre wordt gedrag bepaald door genetische en fysiologische invloeden aan de ene kant, maatschappelijke en externe invloeden aan de andere kant en de wederzijdse beïnvloeding van beide kanten?"*

## Genderonderzoek is belangrijk

Hoewel er nog veel drempels en tegenstrijdigheden (ethische normen over proefdieren) overwonnen moeten worden is het gewenst om meer gendergericht (maatschappelijk én neuro/fysiologisch) onderzoek te doen.

Er zijn twee goede redenen om meer aandacht aan geslachtsverschillen te geven in dierexperimenteel onderzoek en met name meer te gaan werken met vrouwelijke dieren.

- Ten eerste zijn de verschillen tussen beide geslachten dermate groot in alle aspecten van de fysiologie dat ze de individuele variatie overschrijden en dus een goed uitgangspunt vormen voor onderzoek, zowel klinisch als pre klinisch.
- Ten tweede is er niet te ontkomen aan de maatschappelijke vraag. Het dierexperimenteel onderzoek mag niet de aansluiting bij de klinische geneeskunst verliezen ondanks de grote verschillen en tegenstellingen tussen biologen en artsen.

## **7.2 Stellingen**

De belangrijkste conclusies uit dit literatuuronderzoek en aansluitende discussie worden hieronder weergegeven in de vorm van een aantal stellingen.

- 1 HET MAN-VROUW VERSCHIL VERDIENT OP FYSIOLOGISCHE GRONDEN EEN BELANGRIJKE PLAATS IN FUNDAMENTEEL PROEFDIERONDERZOEK.**
- 2 DE DISCREPANTIE TUSSEN HET GEBRUIK VAN DIEREN IN HET EXPERIMENTEEL ONDERZOEK EN DE DOELGROEP IS MEER GEBASEERD OP METHODOLOGISCHE EN STATISTISCHE PROBLEMATIEK DAN OP DISCRIMINATIE VAN GESLACHT.**
- 3 ER IS BEHOEFTE AAN MEER GENDERGERICHT ONDERZOEK. MET NAME IN DE GEDRAGSFYSIOLOGIE KUNNEN DE GRENZEN ONDERZOEKT WORDEN VAN FYSIOLOGISCHE DAN WEL MAATSCHAPPELIJKE INVLOEDEN OP GEDRAGSUITINGEN.**
- 4 ER IS EEN BIOLOGISCH OVERSCHOT IN PROEFDIERFOKKERIJEN ( RATTEN EN MUIZEN) HET IS ETHISCH EN ECONOMISCH VERANTWOORD OM DEZE DIEREN TE GEBRUIKEN VOOR ONDERZOEK.**
- 5 IN DE D.E.C (DIER EXPERIMENTEN COMMISSIE) AANVRAGEN VOOR PROEFDIERONDERZOEK ZOU EXPLICIET HET GESLACHT VAN HET TE GEBRUIKEN DIER GENOEMD (EN VERANTWOORD!!) MOETEN WORDEN.**
- 6 HET FUNDAMENTEEL ONDERZOEK LOOPT ACHTER BIJ HET KLINISCH ONDERZOEK WAT BETREFT GENDERGERICHTE AANDACHT.**
- 7 OOK IN HET KLINISCH ONDERZOEK WORDT ER TE WEINIG ONDERSCHIED GEMAAKT TUSSEN MANNEN EN VROUWEN.**
- 8 IN HET ONDERZOEK NAAR DE GEVOLGEN VAN MILIEUVERONTREINIGINGEN MOET MEER GEZOCHT WORDEN NAAR SPECIFIEKE GEVOLGEN VOOR MANNEN EN VROUWEN.**
- 9 MET NAME DE ROL VAN DE ACTIVERENDE (KORTE TERMIJN) WERKING VAN HORMONEN BEHOEFT MEER AANDACHT (MEMBRAAN GEBONDEN HORMOON RECEPTOREN).**

## **7.3 Doctoraalonderwerpen**

### **Ontwikkelen van een vrouwelijk diermodel**

Bij de onderzoeksgroep gedragsfysiologie wordt in hoofdzaak gebruik gemaakt van mannelijke proefdiermodellen. Om een betere genderbalans te bereiken, is daarom het ontwikkelen van vrouwelijke modellen een eerste vereiste. Zeer veel van dit werk kan gedaan worden in het kader van doctoraalonderwerpen. Bij het ontwikkelen van dierproefmodellen moet er vooral gelet worden op geslachtsverschillen in de basaalwaarden van de te meten parameters.

De activiteit in bepaalde hersengebieden wordt vaak histologisch bepaald door het tellen van Fos-cellen. Het eiwit product van het c-fos gen wordt in ieder hersengebied als eerste aangemaakt als dat hersengebied actief is. Er blijkt echter een groot verschil te zijn in basaal waarden tussen mannetjes en vrouwtjes. Als alleen ná de proef de c-fos activiteit gemeten wordt om de verschillen tussen de geslachten te bepalen dan wordt over het hoofd gezien dat er al verschillen waren. Bijvoorbeeld na chronische stress is er geen verschil in de hoeveelheid aanwezig Fos eiwit (o.a. in de frontale cortex) tussen mannetjes en vrouwtjes, maar omdat de basaalwaarde van dit eiwit bij vrouwtjes veel hoger ligt (en bij gecasteerde vrouwtjes nóg

hoger!!) is de conclusie “geen verschil” niet de juiste. Bij vrouwtjes daalt de activiteit van dit gen in deze hersenstructuur en bij mannetjes stijgt die juist. Misschien dat de activiteit in andere hersengebieden net andersom is en blijken er verschillen te zijn in het gebruik van verschillende hersengebieden door de verschillende geslachten. Er valt veel te leren over het gebruik van hersenstructuren door deze verschillen te ontdekken.

Voor alle parameters die gebruikt worden in diermodel onderzoek geldt dat verschillen in basaalwaarden gemeten moeten worden alvorens er vergelijkend onderzoek tussen mannetjes en vrouwtjes wordt gedaan.

Aangezien dit soort onderzoek niet direct leidt tot ontdekkingen die gewaardeerd worden met de Nobelprijs is dat bij uitstek geschikt om door studenten gedaan te worden. Er kan op die manier erg veel werk gedaan worden voorafgaand aan het daadwerkelijke onderzoek. Als er geen verschillen worden gevonden, noch in de basaalwaarden, noch tussen de geslachten dan is het verantwoord om alleen met mannetjes te werken om een teveel aan proefdiergebruik te voorkomen. Als er wel verschillen worden gevonden kan het zinvol zijn om te overwegen om de voor de hypothese te onderzoeken parameters aan twee geslachten te meten. Na degelijk vóóronderzoek met aantoonbaar bewijs voor geslachtsverschillen is het ook verantwoord om met vrouwtjes te werken als daarvoor meer dieren nodig zouden zijn dan in een vergelijkbaar onderzoek met mannetjes.

Op die manier zou iedere aanvraag voor de DEC verantwoord moeten worden.

## **Genderverschillen en de rol van social support**

Social support als neutraliserende factor na een stress proef is verschillend voor mannetjes en vrouwtjes. Koolhaas en Ter Horst (Zie ook humane ( ) rouw: ref 1)

Als een dier een stressvolle gebeurtenis heeft ondergaan zijn de fysiologische gevolgen met een aantal verschillende parameters meetbaar. Bijvoorbeeld hartslag,temperatuur en activiteit. Ook de immunologische respons is meetbaar. Als dieren na de stressvolle gebeurtenis geplaatst worden in hun thuishok bij hun nestgenoten of hun partner in plaats van een geïsoleerde eenzame opsluiting heeft dat een grote invloed op de kwantitatieve gevolgen van de stress. Voor vrouwtjes is de invloed van deze social support groter dan voor mannetjes. Gert ter Horst van de biopsychiatrie in het AZG heeft footshock proeven gedaan (chronische stress) en aangetoond dat social support de fysiologische gevolgen van stress voor vrouwtjes meer neutraliseert dan voor mannetjes.

## **Statistische analyse van de hormonale cyclus in verband met de hoeveelheid te gebruiken proefdieren.**

- Hebben we echt 4x zoveel dieren nodig? Zijn hormonale fases te matchen?
- Zou een pilot studie om geslachtsverschillen aan te tonen of uit te sluiten een goede start zijn voor ieder wetenschappelijke dierproef?
- Belangrijk is het bepalen van basaalwaarden vóór er naar experimentele verschillen gezocht gaat worden.

## Met dank aan

Drs. G.A. van Leijenhorst Medisch directeur van MSD (Merck Sharp en Dome) farmaceutische industrie

Drs. C.M.Doornebosch, arts Manager Medical Services

Drs. E. Writtevrongel Jansen Cilag Senior Service Manager

Dr. Gert J. ter Horst Biopsychiatrie RuG diermodel stress

Dr. Anton J.W. Scheurink Dierfysiologie RuG diermodel ABA Anorexia nervosa

Dr. P.A. Bolhuis biochemicus (NTVG) farmacogenetica

Dr. Cato ten Hallers-Tjabbes NIOZ wulkenonderzoek

Dr. Ingrid de Jong proefschrift varkens

Dr. Inge Palm onderzoeker reproductie

Drs. Marijke van Klinken huisarts

Dr. Albert Moesker anesthesioloog; pijnbestrijding

Dr. Harry J.M. Blom CDL proefdierdeskundige

Roel Bruggink Sales & Marketing manager HARLAN proefdierfokkerij

# Referenties

1. Beem, E.E. Bereavement: Physiological and psychological consequences proefschrift 18-10-2000 Leiden
2. Bolhuis, P.A. Het belang van de farmacogenetica Ned.Tijdschrift Voor Geneeskunde jan 2001 jaargang 145 nr1 blz.15-18
3. Bus, Jos en Anne Stijkel Het kind van de rekening Uitgave van de Federatie Nederlandse Vakbeweging en de Chemiewinkel Universiteit van Amsterdam 1992)
4. Claassen, V. Neglected factors in pharmacology and neuroscience research Volume 12 Elsevier 1994 Hoofdstuk 8 Male-female differences 154-183 Huston,J.P. (series director) Techniques in the Behavioral and Neural Sciences
5. Genderidentiteit <http://www.isna.org/>
6. Hallers-Tjabbes, C. ten in: Greenpeace magazine 4-2000
7. Jaarverslag CDL Centraal Dieren Laboratorium 1999
8. JGSM The Journal of Gender-Specific Medicine [www.mmhc.com/jgsm/](http://www.mmhc.com/jgsm/)
9. Jong, Ingrid de. Chronic Stress Parameters in Pigs. Proefschrift 29 sept.2000
10. Kelly, Sandra J. Nancy L.Ostrowsky en Marlene A Wilson. Gender Differences in Brain and Behavior: Hormonal and Neural Bases Pharmacology Biochemistry and Behavior Vol 64,no4,pp 655-664, 1999
11. LASA: Labarotory Animal Science Association: The production and disposition of laboratory rodents surplus to the requirements for scientific procedures; the report of a LASA task force meeting held on 12 june 1998
12. Moesker, A. Complex Regional Pain Syndrome. Proefschrift 19 april 2000
13. Neuvel, K. Wee de genen;over de biologische fundamenten van menselijk gedrag. 2000
14. Partnership for Women's Health  
[http://cpmcnet.columbia.edu/dept/partnership/partnership\\_scholars.html](http://cpmcnet.columbia.edu/dept/partnership/partnership_scholars.html)
15. Proefdieren en dierproeven Onder red. van dr. L.F.M. van Zutphen e.a. 2e dr.1995
16. Raeymaekers, P. Genen en gezondheid Wetenschappelijke Bibliotheek van Natuur & Techniek
17. Rosen,D.A.S. and D.Renouf Sex differences in the nursing relationship between mothers and pups in the Atlantic harbour seal (Phoca vitulina concolor) J.Zoology London 231. 1993
18. Wieringa, N.F., 2001. Connecting pre-marketing clinical research and medical practice: The case of cardiovascular drugs. Diss. Rijksuniversiteit Groningen, 2001



